

**PENGARUH PEMBERIAN BEKATUL TERHADAP KADAR
SGOT DAN SGPT SERTA GAMBARAN HISTOPATOLOGI
HEPAR PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
MODEL DIET TINGGI KOLESTEROL**

SKRIPSI

Oleh :

**MIMIN WULAN DARI
145130100111019**



PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018

repository.ub.ac.id

**PENGARUH PEMBERIAN BEKATUL TERHADAP KADAR
SGOT DAN SGPT SERTA GAMBARAN HISTOPATOLOGI
HEPAR PADA TIKUS PUTIH (*Rattus norvegicus*)
MODEL DIET TINGGI KOLESTEROL**

SKRIPSI

*Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan*

Oleh :

MIMIN WULAN DARI
145130100111019



PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**Pengaruh Pemberian Bekatul Terhadap Kadar SGOT dan SGPT serta
Gambaran Histopatologi Hepar pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)
Model Diet Tinggi Kolesterol**

**Oleh:
MIMIN WULAN DARI
145130100111019**

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji pada tanggal 27 Agustus 2018
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran
Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Dra. Anna Roosdiana, M. App,Sc
NIP. 19580711 199203 2 002

drh. Viski Fitri Hendrawan, M.Vet
NIP. 19880518 201504 1 003

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh, DES
NIP. 19600903 198802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Mimin Wulan Dari

NIM : 145130100111019

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulis Skripsi berjudul :

Pengaruh Pemberian Bekatul Terhadap Kadar SGOT dan SGPT serta Gambaran Histopatologi Hepar pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model Diet Tinggi Kolesterol

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari proposal skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka.
2. Apabila dikemudian hari ternyata proposal skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 27 Agustus 2018
Yang menyatakan,

Mimin Wulan Dari
NIM. 145130100111019

**Pengaruh Pemberian Bekatul Terhadap Kadar SGOT dan SGPT serta
Gambaran Histopatologi Hepar pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)
Model Diet Tinggi Kolesterol**

ABSTRAK

Hiperkolesterolemia merupakan suatu gangguan metabolisme yang ditandai dengan peningkatan kadar kolesterol total dalam darah yang melebihi nilai normal. Kadar kolesterol total normal pada tikus yaitu 10-54 mg/dL. Tingginya kadar kolesterol dalam darah, maka tubuh akan menyeimbangkannya dengan mensintesis asam empedu. Sintesis asam empedu dan produksi radikal bebas yang berlebihan akan menyebabkan stres oksidatif. Stres oksidatif akan meningkatkan terjadinya peroksidasi lipid sehingga menyebabkan kerusakan membran sel hepar yang akan meningkatkan kadar SGOT dan SGPT dalam darah serta perubahan gambaran histologi hepar. Kandungan serat kasar dan antioksidan dalam bekatul mampu mengatasi hal tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh bekatul sebagai terapi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diet tinggi kolesterol terhadap kadar SGOT dan SGPT serta gambaran histopatologi hepar. Tikus putih (*Rattus norvegicus*) dibagi dalam 5 kelompok, yaitu: kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif, kelompok terapi bekatul dengan dosis 16%/ekor/hari, 38%/ekor/hari dan 57%/ekor/hari. Terapi bekatul dilakukan selama 21 hari. Kadar SGOT dan SGPT dibaca dengan spektrofotometer dan gambaran histopatologi hepar diamati dengan pewarnaan HE (*Hematoksillin-Eosin*). Kadar SGOT dan SGPT dianalisis dengan *one way ANOVA (Analysis of Variance)* dengan tingkat kepercayaan $\alpha=5\%$ dan histopatologi hepar dianalisis secara kualitatif deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan pemberian bekatul dengan dosis 57%/ekor/hari secara signifikan ($P<0,05$) dapat menurunkan kadar SGOT dan SGPT. Pengamatan histopatologi menunjukkan bahwa antoksidan dalam bekatul dapat menurunkan perlemakan pada gambaran histopatologi hepar. Dosis bekatul 57%/ekor/hari menunjukkan dosis efektif dalam menurunkan kadar SGOT, SGPT dan dapat mengurangi perlemakan sel hepar. Kesimpulan dari penelitian ini bahwa pemberian bekatul dapat menurunkan kadar SGOT, SGPT dan memperbaiki gambaran histopatologi hepar tikus model diet tinggi kolesterol.

Kata kunci : Bekatul, Hepar, Kolesterol, *Rattus norvegicus*, SGOT dan SGPT

**The Effect of Rice Bran Delivery on Levels of SGOT and SGPT and
Histopathology of Liver In White Rat (*Rattus norvegicus*)
High Cholesterol Dietary Model**

ABSTRACT

Hypercholesterolaemia is a metabolic disorder on increase of total cholesterol levels in blood exceeding normal values. Total cholesterol normal levels in rat is 10-54 mg/dL. High cholesterol levels in the blood, then the body will balance it by synthesizing bile acids. The synthesis of bile acids and the production of excessive free radicals will cause oxidative stress. Oxidative stress will increase the occurrence of lipid peroxidation causing damage to hepatic cell membranes that will increase levels of SGOT and SGPT in the blood and changes in the histology of the liver. The content of crude fiber and antioxidants in bran are able to overcome the hypercholesterolemia. This study aimed to determine the effect of rice bran as a therapy in white rats (*Rattus norvegicus*) high-cholesterol diet model on levels of SGOT and SGPT and histopathologic images of hepar. Rats (*Rattus norvegicus*) were divided into 5 groups, namely: negative control group, positive control group, rice bran therapy group with dose 16% /rat/day, 38% /rat/day and 57% / rat/day. Rice bran therapy performed for 21 days. SGOT and SGPT levels were determined by spectrophotometers and hepatic histopathologic images were observed with HE (*Hematoxylin-Eosin*) staining. The levels of SGOT and SGPT were analyzed by *one way ANOVA (Analysis of Variance)* with a belief level $\alpha = 5\%$ and histopathology of liver was analyzed qualitatively descriptively. The results showed that rice bran with dose of 57% / rat / day significantly ($P < 0,05$) can decrease SGOT and SGPT levels. Histopathologic observations showed that antioxidants in rice bran could reduce fatty acids on hepatic histopathology. The dosage of 57% / rat / day showed to decrease SGOT, SGPT levels and can reduce fatty acids on hepatic. It can be concluded that the administration of rice bran can reduce the levels of SGOT, SGPT and improve the histopathologic of liver rats high cholesterol dietary model.

Key words : Cholesterol, Liver, *Rattus norvegicus*, Rice bran, SGOT and SGPT.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan yang Maha Esa atas berkat dan anugerah-Nya penulis dapat menyusun skripsi ini dengan judul **“Pengaruh Pemberian Bekatul Terhadap Kadar SGOT dan SGPT serta Gambaran Histopatologi Hepar pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model Diet Tinggi Kolesterol”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan.

Skripsi ini disusun berdasarkan literatur yang penulis peroleh dari berbagai referensi. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada :

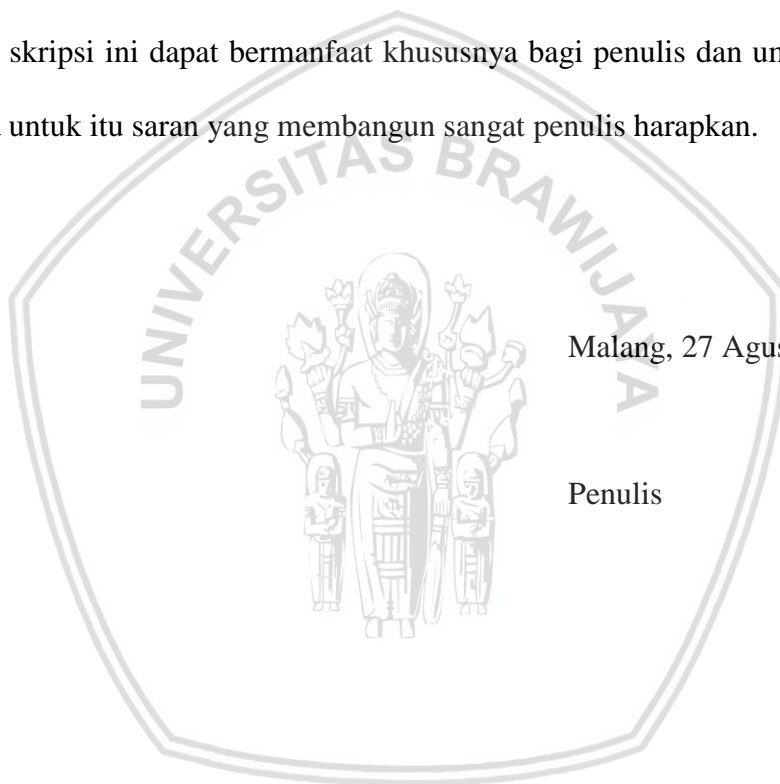
1. Dra. Anna Roosdiana, M.App.Sc dan drh. Viski Fitri Hendrawan, M.Vet selaku dosen pembimbing yang telah menyisihkan waktunya untuk membimbing penulisan skripsi ini.
2. drh. Aldila Noviatri, M.Biomed dan drh. Galuh Chandra Agustina, M.Si selaku penguji yang telah bersedia untuk menjadi dosen penguji dalam skripsi ini.
3. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
4. Keluarga tercinta yang selalu memberi kasih sayang, dukungan, dan doa untuk menyelesaikan studi penulis serta perhatiannya akan kebutuhan penulis baik secara moril maupun materi.
5. Sahabat – sahabat penulis Wahyu, Citra, Agnesya, Irul, Huda, Ila dan Brave yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini.

6. Seluruh dosen dan civitas akademika yang telah membimbing, memberikan ilmu, dan mewadahi penulis selama menjalankan studi di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya.
7. Seluruh kolegium Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya, khususnya kepada teman-teman Brave.

Penulis sadar bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat khususnya bagi penulis dan umumnya bagi pembaca untuk itu saran yang membangun sangat penulis harapkan.

Malang, 27 Agustus 2018

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	4
1.3. Batasan Masalah	4
1.4. Tujuan Penelitian	5
1.5. Manfaat	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Kolesterol	6
2.2. Biosintesis Kolesterol	7
2.3. Metabolisme Lemak	8
2.4. Hiperkolesterolemia	10
2.5. SGOT dan SGPT	12
2.6. Hepar	14
2.7. Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>)	16
2.8. Bekatul	18
BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS	
PENELITIAN	20
3.1. Kerangka Konseptual	20
3.2. Hipotesis Penelitian	23
BAB 4. METODE PENELITIAN	24
4.1. Tempat dan Waktu Penelitian	24
4.2. Alat dan Bahan	24
4.3. Tahapan Penelitian	25
4.4. Prosedur Kerja	25
4.4.1. Rancangan Penelitian dan Persiapan Hewan Coba	25
4.4.2. Analisa Proksimat Bekatul	27
4.4.3. Pembuatan Hewan Model Hiperkolesterol	28
4.4.4. Penentuan dan Pemberian Terapi Bekatul	29
4.4.5. Isolasi Serum Darah	29
4.4.6. Pengukuran Kadar SGOT dan SGPT	30
4.4.7. Isolasi Organ Hepar	31

4.4.8. Pembuatan Preparat Histopatologi	31
4.4.9. Pengamatan Preparat Histopatologi	34
4.4.10. Analisa Data	34
BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN	35
5.1 Pengaruh pemberian bekatul terhadap kadar SGOT dan SGPT pada serum darah tikus putih (<i>Rattus norvegicus</i>) model diet tinggi kolesterol.....	35
5.2 Pengaruh Pemberian Bekatul terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Putih (<i>Rattus norvegicus</i>) Model Diet Tinggi Kolesterol	41
BAB 6. PENUTUP	49
6.1 Kesimpulan	49
6.2 Saran.....	49
DAFTAR PUSTAKA	50
DAFTAR LAMPIRAN	55



DAFTAR TABEL

4.1 Pemberian Perlakuan	29
5.1 Hasil uji <i>Post Hoc</i> kadar SGOT dalam darah tikus putih model diet tinggi kolesterol	35
5.2 Hasil uji <i>Post Hoc</i> kadar SGPT dalam darah tikus putih model diet tinggi kolesterol	36



DAFTAR GAMBAR

2.1. Histologi Normal Hepar Tikus	16
2.2. Skema Morfologi Gabah Kering	18
5.1. Histologi Hepar Tikus Pada Kelompok A.....	42
5.2. Histopatologi Hepar Tikus Pada Kelompok B	42
5.3. Histopatologi Hepar Tikus Pada Kelompok C	43
5.4. Histopatologi Hepar Tikus Pada Kelompok D.....	43
5.5. Histopatologi Hepar Tikus Pada Kelompok E	44

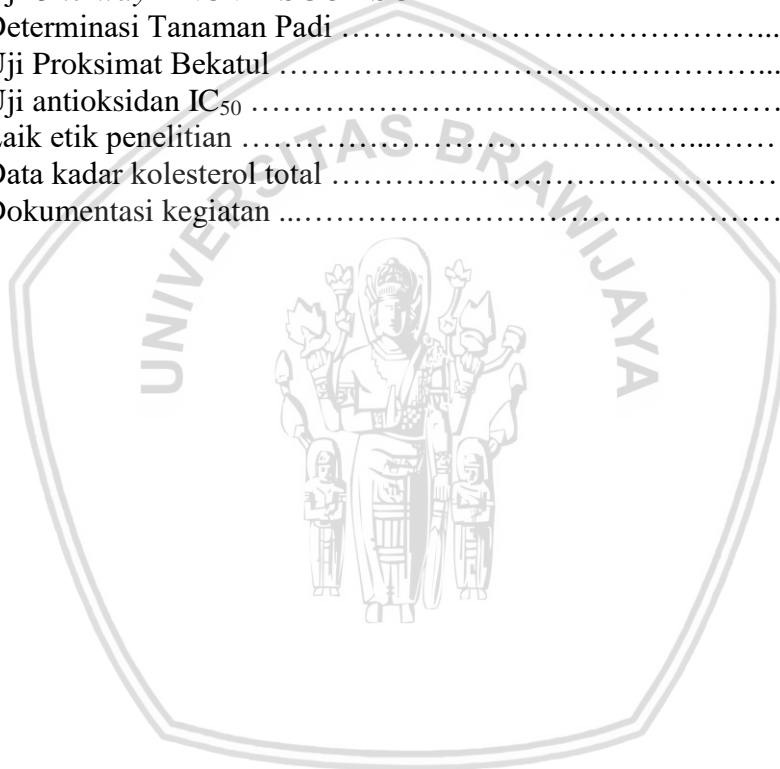


DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

<u>Symbol/singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
SGOT	: <i>Serum Glutamate Oxaloasetat Transaminase</i>
SGPT	: <i>Serum Glutamate Piruvat Transaminase</i>
AST	: <i>Aspartat Transaminase</i>
ALT	: <i>Alanine Transaminase</i>
gr	: gram
ml	: mili liter
mg	: milligram
cc	: cubic centimeter
%	: Persen
°C	: Derajat celcius
rpm	: revolution per minutes
ppm	: part per milion
μl	: microliter
μg	: mikrogram
U/L	: Unit per Liter
ATP	: Adenosin Trifosfat
VLDL	: <i>Very Low Density Lipoprotein</i>
IDL	: <i>Intermediate Density Lipoprtotein</i>
LDL	: <i>Low Density Lipoprotein</i>
HDL	: <i>High Density Lipoprotein</i>
LPL	: Lipoprotein Lipase
ROS	: <i>Reactive Oxygen Spesies</i>
IFCC	: <i>International Federation of Clinical Chemistry</i>
BNF	: <i>Buffer Neutral Formalin</i>
HE	: <i>Hematoxylin Eosin</i>
RAL	: Rancangan Acak Lengkap
ANOVA	: <i>Analysis of Varians</i>

DAFTAR LAMPIRAN

1. Kerangka Operasional.....	55
2. Analisa Proksimat Serat Bekatul.....	56
3. Komponen Pakan Kolesterol	58
4. Perhitungan Dosis Terapi Bekatul.....	59
5. Isolasi Serum Darah	60
6. Pengukuran Kadar SGOT dan SGPT	61
7. Pembuatan Preparat Histopatologi Hepar	62
8. Uji homogenitas dan normalitas SGOT SGPT.....	63
9. Uji <i>One-way</i> ANOVA SGOT SGPT	64
10. Determinasi Tanaman Padi	66
11. Uji Proksimat Bekatul	67
12. Uji antioksidan IC_{50}	68
13. Laik etik penelitian	69
14. Data kadar kolesterol total	70
15. Dokumentasi kegiatan	71



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hiperkolesterolemia merupakan suatu gangguan metabolisme yang ditandai dengan peningkatan kadar kolesterol total dalam darah yang melebihi nilai normal. Kondisi hiperkolesterolemia dapat terjadi karena gaya hidup yang tidak sehat, pola makan yang tidak seimbang dan kurangnya aktivitas fisik. Pola hidup yang tidak sehat seperti mengonsumsi makanan tinggi lemak, karbohidrat dan kurangnya kandungan serat dalam pakan. Hiperkolesterolemia sering terjadi pada *pet animal* seperti anjing sekitar 25% sampai 44% pada anjing di negara-negara barat (Rufaida dkk., 2012). Hiperkolesterolemia pada anjing di Amerika Serikat ditemukan 32,8% dari 192 ekor yang diselidiki (Xenoulis and Steiner, 2010).

Tingginya kadar kolesterol dalam darah, maka tubuh akan menyeimbangkannya dengan mengubah kolesterol menjadi asam empedu. Peningkatan sintesis asam empedu dapat meningkatkan produksi radikal bebas. Apabila produksi radikal bebas berlebih maka akan mengakibatkan antioksidan tidak dapat mengatasinya (Sugiarto dkk., 2012). Radikal bebas merupakan molekul yang reaktif dan tidak stabil karena memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas bereaksi dengan molekul sekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron sehingga stabil. Pengaruh radikal bebas dapat dinetralkan oleh antioksidan. Ketidakseimbangan radikal bebas melebihi antioksidan dapat menyebabkan stres oksidatif (Ismawati, 2012). Stres oksidatif akan menyebabkan terjadinya reaksi peroksidasi lipid membran dan sitosol yang

mengakibatkan terjadinya reduksi asam lemak sehingga merusak membran sel dan organel sel. Membran sel sangat penting bagi fungsi reseptor, terjadinya peroksidasi lipid membran akan mengakibatkan hilangnya fungsi sel secara total dan jika hal ini berlanjut dapat menyebabkan terjadinya kerusakan sel hepar (Satriawan, 2015). Kerusakan pada sel hepar akan mengakibatkan enzim transaminase yaitu *Serum Glutamat Oxaloasetat Transaminase* (SGOT) dan *Serum Glutamate Piruvat Transaminase* (SGPT) di dalam sel hepar akan masuk ke dalam peredaran darah karena terjadi perubahan permeabilitas membran sel sehingga kadar enzim SGOT dan SGPT dalam darah akan meningkat (Laili, 2013). Kerusakan sel hepar akan menurunkan aktivitas enzim lipoprotein lipase (LPL). Penurunan aktivitas enzim LPL akan menyebabkan perubahan *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) menjadi *Intermediet Density Lipoprotein* (IDL) terhambat, sehingga VLDL akan mengendap di hepar dan menyebabkan perlemakan yang di tandai dengan akumulasi vakuola lemak pada sel hepar (Arauna dkk., 2012).

Pengobatan hiperkolesterolemia dengan menggunakan obat kimia dalam jangka panjang dapat menyebabkan kerusakan hepar. Salah satu upaya untuk menurunkan kadar kolesterol dalam darah secara alami yaitu dengan memperbanyak konsumsi serat. Serat kasar terdapat dalam bekatul padi. Serat kasar dapat mempercepat pengikatan asam empedu dalam usus halus, sehingga absorbs lemak terganggu dan ekskresi kolesterol melalui feses akan meningkat. Tubuh akan membentuk asam empedu baru, asam empedu baru didapatkan dari kolesterol yang ada di dalam darah sehingga kadar kolesterol dalam darah akan

menurun. Oleh karena itu serat kasar telah banyak digunakan untuk menjaga kolesterol darah agar tetap normal (Nashriana, 2015).

Tingginya produksi padi akan menghasilkan produk sampingan berupa bekatul yang bisa dimanfaatkan sebagai pengobatan alternatif. Bekatul beras putih dipilih karena jumlahnya yang banyak sehingga mudah didapat selain itu kandungan serat kasar dalam bekatul beras putih cukup tinggi dibandingkan dengan bekatul beras merah. Bekatul merupakan hasil sampingan dari proses penggilingan padi. Bekatul didapatkan dari proses penyosohan yang kedua. Serat kasar yang terkandung dalam bekatul dipercaya dapat menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Bekatul beras putih mengandung karbohidrat 61.13%, kadar abu 10,32%, serat kasar 15,06% dan air 8,31%. Aktivitas antioksidan bekatul beras putih yaitu sebesar 42,22% (Iriyani, 2011). Antioksidan dalam bekatul dapat menghambat reaksi oksidasi. Antioksidan memiliki sistem perlindungan melawan radikal bebas, tetapi juga memiliki sistem perbaikan yang dapat memperbaiki molekul-molekul yang rusak secara oksidatif. Bekatul padi mengandung vitamin E, oryzanol dan vitamin B15 yang berfungsi sebagai antioksidan (Hasan, 2016).

Pada penelitian Hernawati dkk (2013), dosis bekatul 16%, 38% dan 57% mampu memperbaiki parameter lipida darah mencit jantan hiperkolesterolemia dengan meningkatkan pembuangan kolesterol melalui feses. Dosis bekatul 57% mampu menurunkan bobot badan sebesar 10,31%, kadar kolesterol total 17,28 %, trigliserida dan LDL 79,35%, serta meningkatkan HDL sebesar 24,41%.

Berdasarkan uraian di atas, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui penurunan kadar SGOT/AST dan SGPT/ALT beserta gambaran histopatologi hepar akibat pengaruh terapi bekatul terhadap hewan tikus (*Rattus norvegicus*) model diet tinggi kolesterol.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah pemberian bekatul dapat menurunkan kadar SGOT dan SGPT pada serum darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diet tinggi kolesterol?
2. Apakah pemberian bekatul dapat memperbaiki gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diet tinggi kolesterol?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka penelitian ini dibatasi pada:

1. Hewan model yang digunakan adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan gallur wistar umur 10-12 minggu dengan berat badan 130-180 gram dan diperoleh dari Laboratorium Fisiologi Hewan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Keadaan hewan model dibuat menjadi hiperkolesterolemia (kadar kolesterol di dalam darah tinggi) dengan pemberian diet tinggi kolesterol yang didapatkan dari pasar dan apotek yang diberikan melalui sonde lambung dengan dosis 3,02 g/2ml/ekor/hari selama 35 hari.

3. Bekatul yang digunakan yaitu bekatul beras putih yang berasal dari penggilingan padi kelompok tani makmur Jalan Raya Jarakan Desa Karangsoko Kecamatan Trenggalek Kabupaten Trenggalek.
4. Dosis terapi bekatul yang diberikan bersama dengan pakan standar adalah 16%, 38% dan 57% selama 21 hari.
5. Variabel yang diamati pada penelitian ini adalah kadar SGOT dan SGPT serta gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) menggunakan pewarnaan *Hematoxylin Eosin* (HE).

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan rumusan masalah yang telah diuraikan, maka tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui bahwa terapi bekatul dapat menurunkan kadar SGOT dan SGPT pada serum darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diet tinggi kolesterol.
2. Mengetahui bahwa terapi bekatul dapat memperbaiki gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diet tinggi kolesterol.

1.5 Manfaat penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan pengetahuan mengenai manfaat bekatul yang mampu menurunkan kadar SGOT dan SGPT serta memperbaiki kerusakan hepar pada tikus akibat diet tinggi kolesterol.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kolesterol

Kolesterol merupakan komponen lemak atau lipid. Lemak merupakan salah satu zat gizi yang diperlukan oleh tubuh selain zat gizi lain seperti karbohidrat, protein, vitamin dan mineral. Lemak merupakan sumber energi yang memberikan kalori paling tinggi. Selain sebagai sumber energi, kolesterol merupakan zat yang sangat dibutuhkan oleh tubuh (Uthia, 2016). Kolesterol merupakan salah satu senyawa lipid plasma yang terdapat dalam jaringan dalam bentuk lipoprotein plasma. Kolesterol merupakan lipid alifatik yang merupakan komponen struktural penting dalam membentuk membran sel dan lapisan sel serta lapisan terluar protein plasma (Sofian, 2011).

Kolesterol dibentuk atau disintesis di dalam hepar. Sekitar 70% kolesterol dalam darah merupakan hasil sintesis di dalam hepar, sedangkan sisanya berasal dari asupan makanan. Kolesterol menjadi bahan dasar pembentukan hormon-hormon steroid. Kolesterol yang dibutuhkan secara normal diproduksi sendiri oleh tubuh dalam jumlah yang tepat (Uthia, 2016). Kolesterol berasal dari makanan dan dari biosintesis. Setengah dari kolesterol tubuh berasal dari proses sintesis dan sisanya dari makanan (Rimba, 2011).

Makanan tinggi kolesterol akan meningkatkan kadar kolesterol dalam tubuh. Pakan yang banyak digunakan sebagai diet tinggi kolesterol untuk membentuk tikus menjadi hiperkolesterolemia adalah kuning telur karena memiliki kandungan kolesterol yang sangat tinggi, serta mudah didapatkan dengan harga terjangkau. Kuning telur ayam kampung mengandung kolesterol

sebesar 1.881,30 mg/100 g, 1.274,50 mg/100 g pada kuning telur ayam ras, 2.118,75 mg/100 g pada kuning telur itik dan 2.139,17 mg/100 g pada kuning telur puyuh (Chahyanto dkk., 2016). Diet tinggi kolesterol pada tikus dapat ditambahkan kolesterol 2%, asam kolat 0,2% dan minyak babi 5% yang ditambahkan pada komposisi pakannya (Heriansyah , 2013).

2.2 Biosintesis kolesterol

Berikut ini merupakan proses biosintesis kolesterol (Rimba, 2011) :

1. Biosintesis Melanovat

Dua molekul asetil Ko-A membentuk asetoasetil KoA yang dikatalis oleh enzim tiolase sitosol. Asetoasetil KoA dengan molekul asetil Ko-A berikutnya membentuk HMG-KoA yang dikatalis oleh enzim HMG-KoA sintase. Kemudian HMG-KoA di reduktasi menjadi mevalonat oleh NADPH dan dikatalis HMG-KoA reduktase.

2. Pembentukan Unit Isoprenoid

Setelah terbentuk mevalonat, maka mevalonat mengalami fosforilasi oleh ATP untuk membentuk beberapa intermediet terfosforilasi aktif dan kemudian mengalami derkaboksilasi untuk membentuk unit isoprenoid aktif yaitu isopentenil difosfat.

3. Unit isoprenoid membentuk skualen

Unit isopentenil difosfat mengalami isomerisasi membentuk dimetilalil difosfat, yang kemudian bergabung dengan molekul lain isopentenil difosfat untuk membentuk zat antara 10 karbon geranil difosfat.

Kondensasi lebih lanjut dengan isopentenil difosfat membentuk farnesil difosfat. Dua molekul farnesil difosfat berkondensasi dengan ujung difosfat dalam sebuah rantai yang melibatkan eliminasi pirofosfat anorganik untuk membentuk pra-skualen difosfat dan kemudian diikuti oleh reduksi NADPH yang disertai eliminasi radikal pirofosfat anorganik sisanya dan dihasilkan skualen.

4. Pembentukan Lanosterol

Pembentukan lanosterol berasal dari konversi skualen melalui proses siklisasi.

5. Pembentukan Kolesterol

Pembentukan kolesterol dari lanosterol berlangsung di membran retikulum endoplasma dan melibatkan perubahan di inti sterod dan rantai samping. Gugus metil di C_{14} dan C_4 dikeluarkan untuk membentuk 14- desmetil lanosterol dan kemudian zimosterol. Ikatan rangkap di $C_8 - C_9$, kemudian dipindahkan ke $C_5 - C_6$ dalam dua langkah, yang membentuk desmosterol. Akhirnya ikatan rangkap rantai samping di reduksi dan menghasilkan kolesterol.

2.3 Metabolisme lemak

Metabolisme atau transport lemak dibagi menjadi 2 jalur yaitu jalur eksogen dan jalur endogen. Metabolisme lemak jalur eksogen dimulai dari saluran pencernaan. Triglicerida dan kolesterol yang berasal dari makanan dalam usus dikemas dalam bentuk partikel besar lipoprotein, yang di sebut kilomikron.

Kilomikron ini akan membawanya ke aliran darah. Kemudian trigliserida dalam kilomikron tadi mengalami penguraian oleh enzim lipoprotein lipase, sehingga terbentuk asam lemak bebas dan kilomikron sisa. Asam lemak bebas akan menembus jaringan lemak atau sel otot untuk diubah menjadi trigliserida kembali sebagai cadangan energi. Kilomikron sisa akan di metabolisme dalam hati sehingga menghasilkan kolesterol bebas (Islamiyah, 2010).

Sebagian kolesterol yang mencapai organ hati diubah menjadi asam empedu, yang akan dikeluarkan ke dalam usus, berfungsi untuk membantu proses penyerapan lemak dari makanan. Sebagian lagi dari kolesterol dikeluarkan melalui saluran empedu tanpa dimetabolisme menjadi asam empedu kemudian organ hati akan mendistribusikan kolesterol ke jaringan tubuh lainnya melalui jalur endogen. Pada akhirnya kilomikron yang tersisa, dibuang oleh aliran darah oleh hati. Kolesterol juga dapat diproduksi oleh hati dengan bantuan enzim HMG koenzim-A reduktase, kemudian dikirimkan ke dalam aliran darah (Islamiyah, 2010).

Metabolisme lemak melalui jalur endogen yaitu konsumsi makanan dengan karbohidrat yang berlebih akan meningkatkan pembentukan trigliserida dalam hati. Hati akan mengubah karbohidrat menjadi asam lemak, kemudian membentuk trigliserida, trigliserida dibawa melalui aliran darah dalam bentuk *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL). *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) kemudian akan dimetabolisme oleh enzim lipoprotein lipase menjadi *Intermediate Density Lipoprotein* (IDL). Kemudian *Intermediate Density Lipoprotein* (IDL) melalui serangkaian proses akan berubah menjadi *Low Density Lipoprotein* (LDL)

yang kaya akan kolesterol. *Low Density Lipoprotein* (LDL) bertugas untuk menghantarkan kolesterol ke dalam tubuh. Kolesterol yang tidak diperlukan tubuh akan dilepaskan ke dalam darah, dimana pertama-tama akan berikatan dengan *High Density Lipoprotein* (HDL), kemudian *High Density Lipoprotein* (HDL) akan membuang kolesterol yang berlebihan dari dalam tubuh. Sehingga rasio keduanya harus seimbang (Xenoulis, 2010).

2.4 Hiperkolesterolemia

Hiperkolesterolemia merupakan suatu kondisi dimana jumlah kolesterol darah melebihi batas normalnya. Hiperkolesterolemia merupakan hasil dari meningkatnya produksi dan atau meningkatnya penggunaan *Low Density Lipoprotein* (LDL). Hiperkolesterolemia dapat disebabkan karena konsumsi makanan tinggi kolesterol. Dipercayai oleh para ahli gizi, bahwa makanan tinggi lemak dapat meningkatkan level kolesterol darah (Murwani, 2006). Kadar kolesterol total normal pada tikus yaitu 10-54 mg/dL. Selain peningkatan *Low Density Lipoprotein* (LDL), hiperkolesterolemia juga menyebabkan kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) dalam darah menurun. Kadar *High Density Lipoprotein* (HDL) plasma darah tikus yang normal yaitu ≥ 35 mg/dL (Riesanti, 2012), ambang batas normal *Low Density Lipoprotein* (LDL) pada tikus yaitu 7-27,2 mg/dL (Herwiyaririsanta, 2010). Tikus dikatakan hiperkolesterolemia jika kadar kolesterol total melebihi nilai normal (Saputri, 2017).

Pada keadaan hiperkolesterolemia, maka tubuh akan menyeimbangkan kadar kolesterol dalam plasma dengan mengubah kolesterol menjadi asam

empedu. Sintesis asam empedu melibatkan enzim 7α -hidroksilasi dengan memerlukan oksigen, NADPH dan sitokrom P-450. Semakin banyak asam empedu yang disintesis maka akan semakin tinggi aktivitas oksigen dan sitokrom P-450 yang diperlukan. Peningkatan sintesis asam empedu dapat meningkatkan produksi radikal bebas sebagai hasil samping hiperkolesterolemia. Apabila produksi radikal bebas berlebih maka akan mengakibatkan antioksidan di dalam tubuh tidak dapat mengatasi radikal bebas tersebut (Sugiarto dkk., 2012).

Radikal bebas merupakan molekul yang reaktif dan tidak stabil karena memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas bereaksi dengan molekul sekitarnya untuk memperoleh pasangan elektron sehingga stabil. Pengaruh radikal bebas dapat dinetralisir oleh antioksidan. Ketidakseimbangan radikal bebas melebihi antioksidan dapat menyebabkan stres oksidatif. (Ismawati, 2012). Stres oksidatif akan menyebabkan terjadinya reaksi peroksidasi lipid membran dan sitosol yang mengakibatkan terjadinya reduksi asam lemak sehingga merusak membran sel dan organel sel. Membran sel sangat penting bagi fungsi reseptor, terjadinya peroksidasi lipid membran akan mengakibatkan hilangnya fungsi sel secara total dan jika hal ini berlanjut dapat menyebabkan terjadinya kerusakan sel hepar (Satriawan, 2015). Apabila terjadi kerusakan pada sel hepar, enzim transaminase yaitu *Serum Glutamat Oxaloasetat Transaminas* (SGOT) dan *Serum Glutamate Piruvat Transaminase* (SGPT) di dalam sel hepar akan masuk ke dalam peredaran darah karena terjadi perubahan permeabilitas membran sel sehingga kadar enzim SGOT dan SGPT dalam darah akan meningkat (Laili, 2013).

2.5 Serum Glutamate Oxaloacetate Transaminase (SGOT) dan Serum Glutamate Piruvat Transaminase (SGPT).

Serum Glutamate Oxaloacetate Transaminase (SGOT) atau *Aspartat Transaminase (AST)* dan *Serum Glutamate Piruvat Transaminase (SGPT)* atau enzim *Alanine Transaminase (ALT)* merupakan enzim transaminase yang terdapat dalam jaringan tubuh. Enzim SGPT terdapat pada sel hepar, jantung, otot dan ginjal. Jumlah terbesar berada pada sel hepar yang terletak di sitoplasma sel hepar. Enzim SGOT terdapat didalam sel jantung, hepar, otot rangka, ginjal, otak, pankreas, dan limpa. Kadar SGOT tertinggi terletak di dalam sel jantung (Rosida, 2016).

Enzim SGOT dan SGPT merupakan enzim transaminase yang digunakan untuk mendeteksi kerusakan hepar seperti mengetahui terjadinya toksisitas pada hepar atau perubahan struktur membran sel-sel hepar. Enzim SGPT lebih spesifik untuk hepar karena jumlahnya paling banyak disel hepar daripada organ tubuh lainnya. Enzim SGOT dan SGPT merupakan enzim yang berperan penting dalam metabolisme asam amino. Keduanya mengkatalis pemindahan gugus amina dari asam amino glukogenik menjadi senyawa intermediet pada siklus asam sitrat. Reaksi yang terjadi pada enzim SGOT yaitu L-aspartat + α -ketoglutarat menjadi oksaloasetat dan L-glutamat, reaksi pada enzim SGPT yaitu L-alanin + α -ketoglutarat menjadi piruvat dan L-glutamat (Hastuti, 2008). Kadar normal nilai SGOT pada tikus putih adalah 45,7-80,8 U/L (Krysanti dan Widyanarko, 2014). Kadar nilai normal SGPT pada tikus putih berkisar antara 17,5-30,2 U/L (Johnson-Delaney, 2008). Kadar SGPT banyak terdapat dalam sitoplasma sedangkan SGOT banyak dalam mitokondria organel

sel. Apabila kerusakan banyak mengenai membran sel hepar yang di dalamnya banyak terdapat sitoplasma sel maka akan menyebabkan kenaikan pada kadar SGPT. Sedangkan apabila kerusakan sebagian besar di mitokondria pada organel sel maka akan meningkatkan kadar SGOT (Peanasari dkk., 2015). Enzim SGPT paling banyak ditemukan dalam hepar, sehingga untuk mendeteksi penyakit pada hepar, SGPT lebih spesifik daripada SGOT. Peningkatan kadar SGOT dan SGPT akan terjadi jika adanya pelepasan enzim secara intraseluler ke dalam darah yang disebabkan kerusakan sel hepar (Satriawan, 2015).

Pengukuran aktivitas SGPT dengan menggunakan metode kinetik yang di rekomendasikan oleh *International Federation of Clinical Chemistry*. Adanya enzim SGPT dalam serum yang diperiksa akan mengubah L-alanin dan 2-oxoglutarat menjadi glutamate dan piruvat. Piruvat yang terbentuk akan dijadikan substrat oleh enzim laktat dehidrogenase yang akan direduksi menjadi laktat dengan adanya NADH yang akan teroksidasi menjadi NAD⁺. Oksidasi NADH menjadi NAD⁺ diukur sebagai penurunan absorbansi yang sebanding dengan aktivitas SGPT sampel (Sari, 2016).

Prinsip pengukuran aktivitas SGOT sama dengan prinsip pengukuran kadar SGPT yakni menggunakan metode kinetik yang direkomendasikan oleh *International Federation of Clinical Chemistry*. Perbedaannya hanya terletak pada substrat dan enzim yang terlibat. Adanya SGOT dalam serum akan merubah aspartat dan 2-oxoglutarat menjadi L-glutamat dan oksaloasetat. Oksaloasetat yang terbentuk akan dijadikan substrat oleh enzim malat dehidrogenase dan akan direduktasi menjadi malat dengan adanya NADH yang juga akan teroksidasi

menjadi NAD⁺. Oksidasi NADH menjadi NAD⁺ diukur sebagai penurunan absorbansi yang sebanding dengan aktivitas SGOT sampel (Sari, 2016).

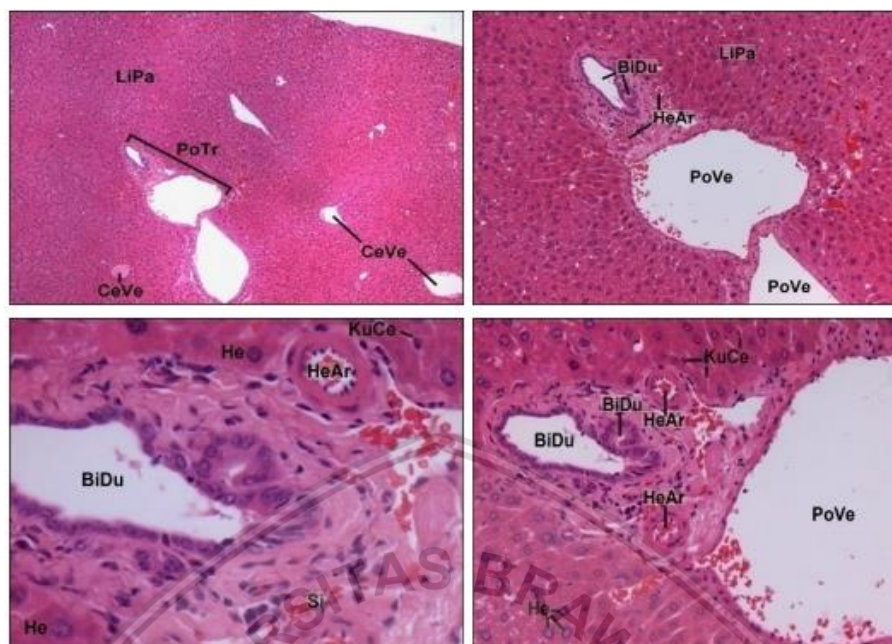
2.6 Hepar

Hepar merupakan organ terbesar yang berada di dalam tubuh, konsistensinya lunak dan terletak dibawah diafragma dalam cavum abdomen region hipocondriaca dextra sampai region epigastrica. Hepar memiliki peran yang penting , diantaranya sebagai tempat penyaringan dan penyimpanan darah, pembentukan empedu, penyimpanan vitamin, pembentukan faktor koagulasi, metabolisme karbohidrat, protein, lemak, hormon dan zat kimia asing (Sinuraya, 2011).

Komponen struktur utama dari hepar adalah sel hepar/hepatosit. Sel hepar saling bertumpuk dan membentuk lapisan sel, memiliki satu atau dua lebih nukleus. Sel hepar berkelompok dalam susunan yang saling berhubungan membentuk suatu unit struktural yang disebut dengan lobulus hepar. Terdapat 3 lobulus hepar yaitu : 1) lobulus klasik merupakan gambaran anastomosis hepatosit yang dipisahkan oleh sistem sinusoid, berbentuk heksagonal dengan vena sentralis sebagai pusat. 2) lobulus portal, merupakan lobulus yang terbentuk dengan menarik garis imajiner antara tiga vena centralis yang paling dekat dengan triad portal, garis ini mencakup sebagian dari tiga lobulus klasik dan pada lobulus ini triad portal sebagai pusatnya. 3) asinus hepar merupakan unit fungsional terkecil dari parenkim hepar (Letsoin, 2016).

Pembagian tiga zona hepar pada sel asinus hepar berdasarkan aliran darah didalam lobulus adalah sebagai berikut: 1) Zona 1 merupakan zona perifer atau periportal yang menerima darah dari arteri hepatika dan vena porta. 2) Zona 2 atau zona midzonal yang terletak antara zona 1 dan zona 3. 3) Zona 3 disebut zona sentrilobular yang terletak di sekitar vena sentralis. Sel hepatosit tersusun radier dari bagian tengah dan berakhir pada vena sentralis pada lobulus hepar, diantara susunan hepatosit terdapat sinusoid kapiler atau sinusoid hepar. Sinusoid hepar mengandung sel-sel endotel dan sel-sel fagosit yaitu sel kupffer. Setiap permukaan hepatosit berkontak dengan dinding sinusoid, melalui celah disse dengan permukaan hepatosit lain. Tempat pertemuan dua hepatosit terbentuk celah tubuler yang dikenal sebagai kanalikuli biliaris (Letsoin, 2016).

Struktur histologis hepar terdiri dari beberapa lobus dan setiap lobus terbagi menjadi lobulus-lobulus, yang merupakan unit mikroskopis dan fungsional organ. Setiap lobulus merupakan badan heksagonal yang terdiri dari lempeng-lempeng sel hepar berbentuk kubus, tersusun radier mengelilingi vena sentralis yang mengalirkan darah dari lobulus. Diantara lempengan sel hepar terdapat kapiler yang dinamakan sinusoid, yang merupakan cabang vena porta dan arteri hepatika. Sinusoid dibatasi oleh sel kupffer yang berfungsi seperti sistem monosit-makrofag. Selain cabang-cabang vena porta dan arteri hepatika yang melingkari bagian perifer lobulus hepar, juga terdapat saluran empedu (Sinuraya, 2011). Berikut pada (**Gambar 2.1**) merupakan gambaran histologi normal hepar tikus menurut Susanti (2015):



Gambar 2.1 Histologi Normal Hepar Tikus. LiPa: liver parenchyma, PoTr: portal triad, CeVe : central vein, BiDu: bile duct, HeAr: hepatic artery, PoVe: portal vein, KuCe: kupffer cell, He: hepatosit, Si: Sinusoid (Susanti, 2015).

2.7 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*)

Hewan coba merupakan hewan yang dikembangkan untuk digunakan sebagai hewan uji coba penelitian. Tikus putih sering digunakan dalam berbagai macam penelitian dikarenakan tikus memiliki karakteristik genetic yang unik, mudah berkembang, murah serta mudah didapat. Tikus merupakan hewan yang sering melakukan aktivitasnya malam hari (*nocturnal*) (Adleend, 2015).

Klasifikasi tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah sebagai berikut:

Filum	: Chordate
Subfilum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Subclass	: Placentalia

Ordo : Rodentia
Familia : Muridae
Genus : Rattus
Spesies : *Rattus norvegicus*

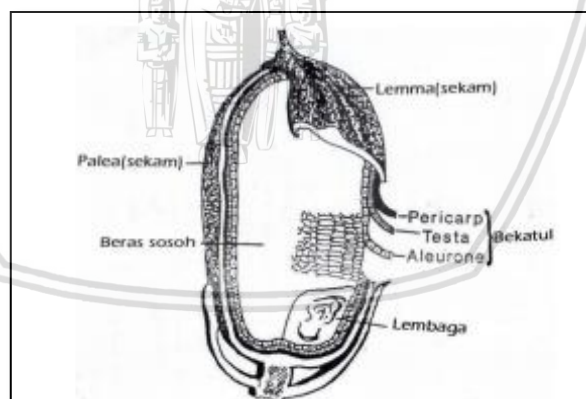
Tikus putih merupakan strain albino dari *Rattus norvegicus*. Tikus memiliki beberapa galur yang merupakan hasil pembiakkan sesama jenis atau persilangan. Galur yang sering digunakan untuk penelitian yaitu galur wistar ditandai dengan kepala besar dan ekor yang lebih pendek (Susanti, 2015). Bobot badan tikus jantan pada umur 12 minggu mencapai 240 gram sedangkan tikus betina mencapai 200 gram. Tikus memiliki lama hidup berkisar antara 4-5 tahun dengan berat badan umum tikus jantan berkisar antara 267-500 gram dan betina 225-325 gram. Pertambahan berat badan tikus dapat mencapai 5g/ekor/hari, tikus jantan tua dapat mencapai bobot badan 500 gram, tetapi tikus betina jarang lebih dari 350 gram. Kebutuhan pakan bagi seekor tikus setiap harinya kurang lebih sebanyak 10% dari bobot tubuhnya jika pakan tersebut berupa pakan kering dan dapat ditingkatkan sampai 15% dari bobot tubuhnya jika pakan yang dikonsumsi berupa pakan basah. Kebutuhan minum seekor tikus setiap hari kira-kira 15-30 ml air. Jumlah ini dapat berkurang jika pakan yang dikonsumsi sudah banyak mengandung air (Adleend, 2015).

Menurut Pareira (2010), tikus putih jantan dapat memberikan hasil penelitian yang lebih stabil karena tidak dipengaruhi oleh siklus menstruasi dan kebuntingan seperti pada tikus putih betina. Kondisi fisiologis tikus jantan lebih stabil daripada tikus betina. Tikus putih sebagai hewan percobaan relative resisten

terhadap infeksi. Ada 2 sifat yang membedakan tikus putih dari hewan percobaan lainnya yaitu bahwa tikus putih tidak dapat muntah karena struktur anatomi yang tidak lazim di esophagus bermuara ke dalam lambung dan tikus putih tidak memiliki kantung empedu.

2.8 Bekatul

Bekatul merupakan hasil dari proses penggilingan padi. Bekatul terdiri dari lapisan dalam butiran beras yaitu lapisan aleuron/kulit ari serta sebagian kecil endosperma berpati. Dalam proses penggilingan padi bekatul dihasilkan pada tahap penyosohan kedua, sedangkan pada tahap penyosohan pertama yang dihasilkan berupa dedak (Astawan dan Leomitra, 2009). Berikut skema morfologi gabah kering seperti pada (**Gambar 2.2**).



Gambar 2.2 Skema morfologi gabah kering (Swastika, 2009).

Bekatul memiliki kandungan gizi yang tinggi terutama serat, lemak dan protein. Kadar serat pangan bekatul 21,2 – 30,2%, kadar lemak kasar sebesar 23,3-24,9%, kadar abu 9,2 – 11,3% dan kadar air 9,16-14,74% (Hernawati dkk, 2013). Menurut Iriyani (2011), bekatul beras putih mengandung karbohidrat

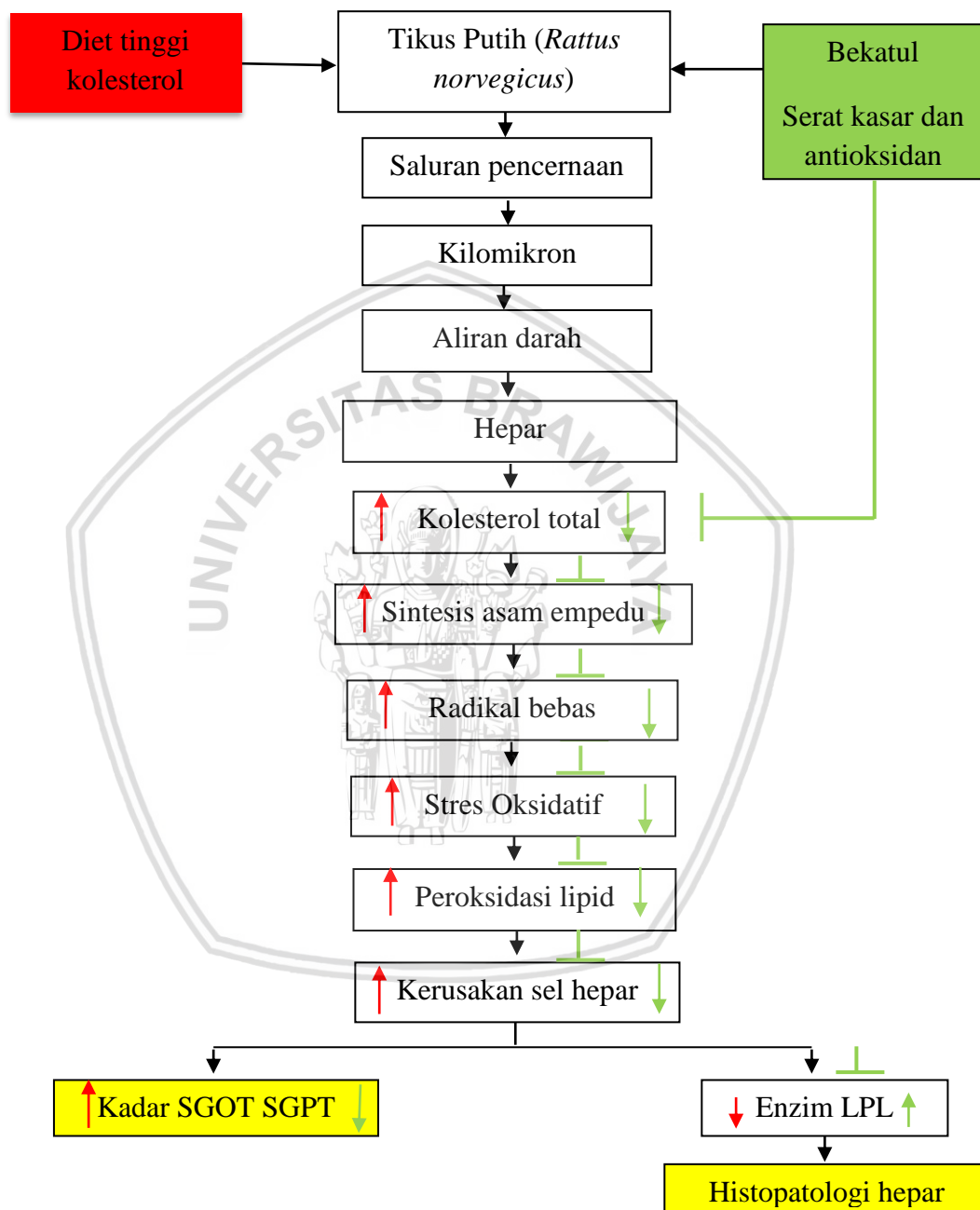
61.13%, abu 10,32%, serat kasar 15,06% dan air 8,31%. Aktivitas antioksidan bekatul beras putih yaitu sebesar 42,22%

Serat kasar akan mempercepat laju pakan dalam mengikat asam empedu sehingga absorpsi lemak terhambat dan meningkatkan ekskresi lemak termasuk kolesterol melalui feses. Serat kasar memiliki sifat mengikat bahan organik lainnya seperti asam empedu dan akan terbuang bersama dengan feses. Asam empedu berfungsi memecah lemak hingga terurai menjadi asam lemak yang akan diserap oleh tubuh. Serat makanan yang mengikat asam empedu tersebut akan menurunkan jumlah asam empedu bebas sehingga akan dibutuhkan asam empedu baru. Asam empedu baru dibentuk dari kolesterol yang ada di dalam darah sehingga kolesterol dalam darah menjadi turun (Teru dkk., 2017).

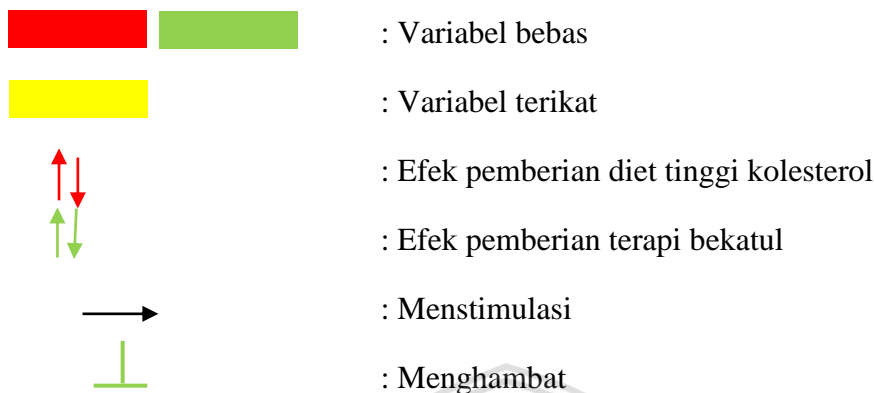
Antioksidan adalah komponen dengan berat molekul kecil yang dapat bereaksi dengan oksidan sehingga menghambat oksidasi. Antioksidan memiliki sistem perlindungan melawan radikal bebas, tetapi juga memiliki sistem perbaikan yang dapat memperbaiki molekul-molekul yang rusak secara oksidatif. Bekatul padi mengandung vitamin E, oryzanol dan vitamin B15 yang berfungsi sebagai antioksidan (Hasan, 2016).

BAB 3. KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



Keterangan gambar:



Pemberian pakan diet tinggi kolesterol pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) akan menyebabkan peningkatan kadar kolesterol total. Makanan yang dikonsumsi akan masuk ke saluran pencernaan dan di dalam usus halus diubah menjadi bentuk partikel besar lipoprotein yang disebut kilomikron. Kilomikron akan masuk ke aliran darah. Kilomikron akan mengalami penguraian oleh enzim lipoprotein lipase yang berasal dari endotel, sehingga terbentuk menjadi asam lemak bebas dan kilomikron remnant. Kilomikron remnant akan dimetabolisme di dalam hepar sehingga menghasilkan kolesterol bebas. Sebagian kolesterol bebas yang mencapai organ hepar diubah menjadi asam empedu.

Sintesis asam empedu melibatkan enzim 7α -hidroksilase dengan memerlukan oksigen, NADPH dan sitokrom P-450. Semakin banyak asam empedu yang disintesis maka akan semakin tinggi aktivitas oksigen dan sitokrom P-450 yang diperlukan. Peningkatan sintesis asam empedu dapat meningkatkan produksi radikal bebas sebagai hasil samping hiperkolesterolemia. Apabila produksi radikal bebas berlebih maka akan mengakibatkan antioksidan di dalam

tubuh tidak dapat mengatasi radikal bebas tersebut. Ketidakseimbangan radikal bebas melebihi antioksidan dapat memicu terjadinya stres oksidatif.

Stres oksidatif akan menyebabkan reaksi peroksidasi lipid membran dan sitosol yang mengakibatkan terjadinya reduksi asam lemak sehingga merusak membran sel dan organel sel. Membran sel sangat penting bagi fungsi reseptor, terjadinya peroksidasi lipid membran akan mengakibatkan hilangnya fungsi sel secara total dan jika hal ini berlanjut dapat menyebabkan terjadinya kerusakan sel hepar. Apabila terjadi kerusakan pada sel hepar, enzim transaminase yaitu *Serum Glutamat Oxaloasetat Transaminase* (SGOT) dan *Serum Glutamate Piruvat Transaminase* (SGPT) di dalam sel hepar akan masuk ke dalam peredaran darah karena terjadi perubahan permeabilitas membran sel sehingga kadar enzim SGOT dan SGPT dalam darah akan meningkat. Kerusakan sel hepar akan mengakibatkan penurunan aktivitas enzim lipoprotein lipase (LPL). Penurunan aktivitas enzim lipoprotein lipase (LPL) akan menyebabkan perubahan *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) menjadi *Intermediet Density Lipoprotein* (IDL) terhambat, sehingga *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL) akan mengendap di hepar dan menyebabkan perlemakan yang ditandai dengan akumulasi vakuola lemak pada sel hepar.

Kandungan serat kasar dalam bekatul mampu menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Mekanisme serat kasar dalam menurunkan kolesterol total yaitu pengikatan asam empedu di usus halus kemudian diekskresikan melalui feses. Akibatnya, terjadi pemecahan kolesterol endogen untuk menggantikan asam empedu yang hilang, sehingga kadar kolesterol dalam darah akan berkurang. Oleh

karena itu serat kasar telah banyak digunakan untuk menjaga kolesterol darah agar tetap normal. Bekatul juga mengandung antioksidan yang dapat menghambat reaksi oksidasi. Antioksidan memiliki sistem perlindungan melawan radikal bebas. Sehingga dapat menurunkan terjadinya kerusakan hepar dan menurunkan kadar *Serum Glutamat Oxaloasetat Transaminase* (SGOT) dan *Serum Glutamate Piruvat Transaminase* (SGPT) dalam darah.

3.2 Hipotesis penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang ada, maka hipotesis penelitian yang dapat diajukan adalah sebagai berikut:

1. Bekatul mampu menurunkan kadar SGOT dan SGPT pada serum darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diet tinggi kolesterol.
2. Bekatul mampu memperbaiki gambaran histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diet tinggi kolesterol.

BAB 4. METODE PENELITIAN

4.1 Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Laboratorium Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya untuk pengukuran kadar SGOT SGPT dan Pembuatan Preparat Histopatologi Hepar di Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pelaksanaan penelitian berlangsung selama 3 bulan mulai bulan Februari-April 2018.

4.2 Alat dan Bahan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini, antara lain kandang tikus, botol minum tikus, tempat pakan tikus, sonde lambung, spuit 5 mL, beaker glass, gelas ukur, batang pengaduk, timbangan digital, erlenmeyer, corong *Buchner*, kertas saring, cawan porselen, oven, *exicator*, tanur listrik, pipet tetes, *dissecting* set, glove, alat sentrifuse, tabung reaksi, tabung *venoject*, mikropipet, penjepit, mikrotom potong beku, cetakan besi, gelas objek, cover glass, mikroskop cahaya.

Bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini, antara lain tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) strain Wistar (Umur 10-12 minggu dengan berat badan 130-180 gram), bekatul beras putih yang telah di determinasi, pakan tikus BR-1, minyak babi, asam kolat, kuning telur puyuh rebus, aquades, H₂SO₄ 0,3 N, NaOH 1,5 N, HCl 0,3 N, air, aceton, BNF 10%, alkohol bertingkat 70%, 80%, 96%,

alkohol absolut, alkohol xylol, paraffin cair, pewarna hematoksin eosin (HE), reagen GOT dan GPT.

4.3 Tahapan Penelitian

1. Rancangan Penelitian dan persiapan hewan coba
2. Analisa proksimat kandungan bekatul
3. Pembuatan hewan model diet tinggi kolesterol
4. Penentuan dan pemberian terapi bekatul
5. Isolasi serum darah
6. Pengukuran kadar SGOT/AST dan SGPT/ALT
7. Isolasi hepar
8. Pembuatan Preparat Histopatologi Hepar
9. Pengamatan Preparat Histopatologi Hepar
10. Analisa data

4.4 Prosedur Kerja

4.4.1 Rancangan Penelitian dan Persiapan Hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*)

Hewan model dibagi secara acak menjadi 5 kelompok, yaitu kelompok A (tikus sebagai kontrol negatif), kelompok B (tikus sebagai kontrol positif diberi pakan diet tinggi kolesterol), kelompok C (tikus terinduksi pakan diet tinggi kolesterol diberikan terapi bekatul 16%/ekor/hari), kelompok D (tikus terinduksi pakan diet tinggi kolesterol diberikan terapi bekatul 38%/ekor/hari), dan

kelompok E (tikus terinduksi pakan diet tinggi kolesterol diberikan terapi bekatul 57%/ekor/hari) (**Lampiran 1**).

Variabel yang diamati pada penelitian ini antara lain:

Variabel bebas : Dosis bekatul dan pakan tinggi kolesterol.

Variabel tergantung : Kadar SGOT/AST dan SGPT/ALT serta histopatologi hepar.

Variabel kendali : berat badan tikus, umur tikus, jenis kelamin tikus, suhu dan pakan.

Estimasi besar sampel yang dihitung berdasarkan rumus (Kusriningrum, 2010):

$$p(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n-5 \geq 15$$

$$5n \geq 15+5$$

$$5n \geq 20$$

$$n = 4$$

Keterangan :

P = jumlah kelompok perlakuan

n = jumlah ulangan yang diperlukan

Berdasarkan perhitungan tersebut maka ulangan yang dibutuhkan pada 5 macam perlakuan paling sedikit membutuhkan 4 kali ulangan dalam setiap kelompoknya, sehingga membutuhkan 20 ekor hewan coba. Hewan coba yang

digunakan yaitu tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan gallur wistar umur 10-12 minggu sebanyak 20 ekor dengan berat badan 130-180 gram. Hewan coba diadaptasi selama 7 hari dan diberi pakan normal dan minum secara *ad libitum* pada masing-masing tikus. Hewan coba tersebut dikandangkan pada kandang yang terbuat dari bak plastic yang diberi penutup kawat. Alas kandangnya berupa serbuk gergaji yang fungsinya untuk mencegah agar kandang tidak terlalu lembab.

4.4.2 Analisa Proksimat Kandungan Serat Kasar Bekatul

Bekatul yang digunakan berasal dari penggilingan padi kelompok tani makmur Jalan Raya Jarakan Desa Karangploso Kecamatan Trenggalek Kabupaten Trenggalek. Pengujian kandungan serat kasar bekatul dilakukan dengan cara menimbang terlebih dahulu ± 1 gram sampel (A) dan dimasukkan kedalam Erlenmeyer 300 cc. lalu ditambahkan 50 cc H_2SO_4 0,3 N dan didihkan diatas penangas air selama 30 menit. Kemudian menambahkan 25 cc NaOH 1,5 N dan mendidihkannya kembali selama 30 menit. Kemudian corong *Buchner* diberi alas kertas saring yang telah diketahui beratnya (B). larutan dalam Erlenmeyer di saring menggunakan corong *Buchner*, dan bilas Erlenmeyer dengan 50 cc air panas kemudian di saring kembali. HCL 0,3 N sebanyak 50 cc dimasukkan kedalam corong *Buchner* dan di biarkan selama 1 menit kemudian dihisap dengan kompresor melalui lubang yang ada pada Erlenmeyer. Residu dalam corong *Buchner* dibilas dengan air panas beberapa kali (5kali), kemudian dituangkan acetone 5 cc kedalamnya dan dibiarkan 1 menit. Setelah itu dihisap dengan kompresor. Cawan porselen dipanaskan selama 1 jam dalam oven $105^{\circ}C$, lalu

didinginkan dalam exicator 10-15 menit kemudian ditimbang (C). kertas saring yang berisi residu diangkat dan diletakkan dalam cawan porselen tersebut kemudian dikeringkan dalam oven 105°C selama 1,5 jam dan didinginkan dalam *exicator* selama ± 30 menit lalu ditimbang (D). Cawan porselen dimasukkan kedalam tanur listrik 550°C selama 2 jam. Kemudian tanur listrik dimatikan dan di tunggu suhu menunjukkan angka 0 °C, setelah itu cawan dikeluarkan dari tanur listrik dan di masukkan dalam exicator selama ± 15 menit dan ditimbang (E) (**Lampiran 2**). Perhitungan kadar serat kasar menggunakan rumus berikut ini (Setiawan,2010) :

$$\text{Kadar serat kasar} = \frac{D-E-B}{A} \times 100\%$$

4.4.3 Pembuatan Hewan Model Hiperkolesterolemia

Kelompok tikus B, C, D, dan E diberikan diet tinggi kolesterol menggunakan sonde lambung. Diet tinggi kolesterol dibuat dengan mencampurkan minyak babi sebanyak 2 gram, asam kolat 0,02 gram, kuning telur puyuh rebus sebanyak 1 gram (**Lampiran 3**) dan aquades sampai 2 ml (Rufaida dkk., 2012). Pakan diet tinggi kolesterol diberikan pada hari ke-8 selama 35 hari sebanyak 3,02 gram/2 ml. Pemberian pakan standar dan minum dilakukan setelah 1 jam pemberian pakan diet tinggi kolesterol. Pakan yang diberikan sebanyak 20 gram/ekor/hari (Larasathi dkk., 2012).

4.4.4 Penentuan dan Pemberian Terapi Bekatul

Terapi diberikan pada hari ke-22 yaitu sehari setelah pemberian diet tinggi kolesterol. Terapi bekatul diberikan pada kelompok C, kelompok D dan kelompok E. Pemberian terapi diberikan dengan cara mencampur bekatul berdasarkan dosis yang telah ditentukan dengan sedikit tepung dan air lalu dibentuk menjadi bulatan. Pemberian terapi rutin dilakukan sehari sekali selama 21 hari (**Lampiran 4**).

Tabel 4.1 Pemberian Perlakuan

No	Kelompok	Perlakuan
1.	Kelompok A	Kontrol negatif
2.	Kelompok B	Tikus model diet tinggi kolesterol
3.	Kelompok C	Tikus model diet tinggi kolesterol + terapi bekatul dosis 1 (16%/ekor/hari) = 3,2 gram/ekor/hari
4.	Kelompok D	Tikus model diet tinggi kolesterol + terapi bekatul dosis 2 (38%/ekor/hari) = 7,6 gram/ekor/hari
5.	Kelompok E	Tikus model diet tinggi kolesterol + terapi bekatul dosis 3 (57%/ekor/hari) = 11,4 gram/ekor/hari

4.4.5 Isolasi Serum Darah

Serum darah diambil pada masing-masing kelompok pada hari ke-43. Darah diambil melalui jantung, dengan cara hewan coba di dislokasi pada vertebrae cervicalis. Tikus di posisikan dorsoventral kemudian dilakukan pembedahan pada abdomen hingga mencapai thorak. Insisi kulit, muskulus dan costae. Darah diambil dari jantung dengan menggunakan spuit 5 mL, kemudian darahnya di tampung ke *venoject* lalu disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit (**Lampiran 5**).

4.4.6 Pengukuran kadar SGOT/AST dan SGPT/ALT

a. Pengukuran kadar SGOT/AST

Metode pengukuran kadar SGOT/AST yaitu metode kinetik yang di rekomendasikan oleh IFCC (*International Federation of Clinical Chemistry*). Sampel darah hewan coba diambil melalui sinus orbitalis sebanyak 1 mL kemudian di sentrifugasi. Setelah itu serum darah di pipet sebanyak 50 μ L untuk dianalisis. Reagensia reaksi GOT dibuat dengan cara mencampurkan R1 buffer dengan R2 substrat dengan perbandingan 5:1 kedalam tabung reaksi. Kemudian serum sampel sebanyak 50 μ L di reaksikan dengan 500 μ L reagensia GOT dalam tabung reaksi. Setelah itu, kadar SGOT diukur dengan spektrofotometer dan menggunakan aquades sebagai blanko. Pembacaan absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 340 nm. Data SGOT dinyatakan dalam satuan Unit/Liter (U/L) (Sari, 2016). **(Lampiran 6)**.

Berikut kandungan reagen GOT berupa R1 dan R2 yang akan di campurkan dengan perbandingan 5:1:

R1: - 100 mmol/L Buffer TRIS pH 7,8

- 200 mmol/L L-aspartat

- 800 U/L Laktat Dehidogenase (LDH)

- 600 U/L Malat Dehidrogenase (MDH)

R2 : - 0,18 mmol/L NADH₂

- 12 mmol/ L 2-oxoglutarat

b. Pengukuran kadar SGPT/ALT

Metode pengukuran kadar SGPT/ALT yaitu dengan metode kinetik yang di rekomendasikan oleh IFCC (*International Federation of Clinical Chemistry*). Prosedur kerja pengukuran kadar SGPT/ALT dalam serum darah sampel memiliki kesamaan dengan pengukuran kadar SGOT/AST yang telah dijelaskan kecuali pada reagen yang digunakan. Pengukuran kadar SGPT/ALT menggunakan reagen GPT. Berikut kandungan reagen GPT berupa R1 dan R2 yang akan dicampurkan dengan perbandingan 5:1:

R1: - 100 mmol/L Buffer TRIS pH 7,8

- 500 mmol/L L-alanin

- 1200 U/L Laktat Dehidrogenase (LDH)

R2: - 0,18 mmol/L NADH₂

-15 mmol/L 2-oxoglutarat

4.4.7 Isolasi organ hepar

Hewan coba didislokasi pada vertebrae cervicalis. Tikus diposisikan dorsoventral kemudian dilakukan pembedahan pada abdomen secara horizontal dan vertikal kemudian isolasi organ heparnya.

4.4.8 Pembuatan Preparat Histopatologi Hepar

Adapun langkah kerja dalam pembuatan preparat histopatologi hepar tikus putih sebagai berikut (Suputri, 2015) (**Lampiran 7**):

1. Fiksasi dan pencucian

Jaringan hepar tikus diambil dan dimasukkan ke dalam BNF (*Buffer Neutral Formalin*) 10% selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan pencucian dengan air mengalir. Tujuan dari fiksasi dan pencucian adalah untuk mencegah terjadinya degenerasi post mortem, mematikan bakteri, meningkatkan afinitas jaringan terhadap berbagai zat warna, membuat jaringan lebih keras sehingga mempertahankan bentuk semula dan meningkatkan indeks refraksi berbagai komponen jaringan.

2. Dehidrasi

Dehidrasi dilakukan dengan cara memasukkan jaringan hepar yang telah di cuci ke dalam larutan alkohol bertingkat dengan urutan alkohol 70%, 80%, 96% sampai alkohol absolut masing-masing selama 30 menit. Dehidrasi bertujuan untuk menarik air dari dalam jaringan.

3. Clearing

Jaringan hepar dimasukkan kedalam larutan alkohol dan xylol masing-masing 30 menit. Clearing bertujuan untuk membersihkan dan menjernihkan jaringan.

4. Embedding/infiltrasi

Jaringan dimasukkan ke dalam paraffin I dan II yang mencair. Kemudian dimasukkan ke dalam oven selama 30 menit, setelah itu dimasukkan ke dalam paraffin I dan II dan dimasukkan ke dalam oven selama 30 menit pada suhu 30 °C. Tujuan infiltrasi yaitu untuk menginfiltrasi dengan

paraffin. Paraffin akan mengikat jaringan sehingga bentuk dan strukturnya tidak berubah.

5. Pembuatan Blok paraffin

Beberapa cetakan besi yang sudah diolesi gliserin dengan tujuan untuk mencegah lengketnya paraffin dengan cetakan. Kemudian jaringan hepar yang dimasukkan dengan pinset dan ditunggu hingga paraffin membeku. Tujuannya untuk memudahkan pemotongan jaringan.

6. Pemotongan (*Sectioning*) dan penempelan pada gelas objek

Jaringan dipotong dengan mikrotom setebal 4 mikron. Kemudian irisan jaringan diletakkan pada gelas objek dan dikeringkan.

7. Pewarnaan HE (*Hematoxylin Eosin*)

Pewarnaan jaringan bertujuan untuk memudahkan dalam melihat perubahan pada jaringan. Pewarnaan HE dilakukan dengan menggunakan metode Harris yaitu jaringan yang telah dikeringkan dimasukkan kedalam larutan xylol I 3 menit, xylol II 1 menit, kemudian dimasukkan kedalam alcohol absolut I dan II selama 1 menit, lalu alcohol 96%, 80%, 70% masing-masing 1 menit. Kemudian preparat dibilas dengan air selama 1 menit. Lalu preparat dimasukkan ke zat warna Hematoxylin selama 5-10 menit kemudian dicuci dengan air mengalir 2-5 menit dan dibilas aquades secukupnya. Setelah itu preparat diwarnai dengan pewarna eosin selama 15 menit dan dicuci dengan air mengalir dan dibilas aquades 1-2 menit. Setelah diwarnai, preparat dimasukkan kedalam alcohol 1-2 menit dan selanjutnya dibersihkan sisa-sisa pewarnaan.

8. Mounting

Mounting adalah penutupan objek glass dengan cover glass yang telah ditetesi dengan Canada balsam.

4.4.9 Pengamatan Preparat Histopatologi Hepar

Pengamatan preparat histopatologi menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran awal 100 kali. Pengamatan dilanjutkan dengan perbesaran 400 kali. Fungsinya untuk melihat kerusakan dari sel hepar seperti perlemakan dan abnormalitas lainnya.

4.4.10 Analisa Data

Percobaan ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan empat ulangan. Analisa data histopatologi hepar dilakukan secara kualitatif deskriptif. Kadar SGOT dan SGPT dihitung dengan metode kinetik rekomendasi oleh IFCC (*International Federation of Clinical Chemistry*) dan dibaca dengan spektrofotometer, dilakukan secara kuantitatif dengan ragam analisa *one way* ANOVA menggunakan SPSS 24.0 *for windows*. Apabila terdapat perbedaan perlakuan nyata, maka perbedaan nilai tengahnya diuji dengan perbandingan berganda uji *Tukey* dengan ($\alpha=5\%$).

BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pengaruh pemberian bekatul terhadap kadar SGOT dan SGPT pada serum darah tikus putih (*Rattus norvegicus*) model diet tinggi kolesterol.

Hasil uji normalitas dan homogenitas pada kadar *Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase* (SGOT) dan *Serum Glutamat Piruvat Transaminase* (SGPT) tikus hasil perlakuan didapatkan data yang homogen ($p > 0,05$) (**Lampiran 8**), sehingga dapat dilanjutkan dengan uji *One-way* ANOVA. Uji *One-way* ANOVA menunjukkan bahwa bekatul dapat menurunkan kadar SGOT dan SGPT secara signifikan ($p < 0,05$) (**Lampiran 9**). Hasil uji *Post Hoc* kadar SGOT dalam darah tikus putih hasil perlakuan disajikan dalam **Tabel 5.1** berikut ini:

Tabel 5.1 Hasil uji *Post Hoc* kadar SGOT dalam darah tikus putih model diet tinggi kolesterol

Perlakuan	Rata-rata kadar SGOT (U/L)	Penurunan aktivitas SGOT terhadap kontrol positif (%)
Kontrol negatif (-) (A)	$64,75 \pm 4,50^a$	-
Kontrol positif (+) (B)	$140,25 \pm 17,37^c$	-
P1 (Dosis bekatul 16%/ekor/hari) (C)	$97,00 \pm 7,83^b$	31%
P2 (Dosis bekatul 38%/ekor/hari) (D)	$89,25 \pm 4,78^b$	36%
P3 (Dosis bekatul 57%/ekor/hari) (E)	$68,50 \pm 4,65^a$	51%

Keterangan: rata-rata kadar SGOT jika memuat huruf yang berbeda berarti ada perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) dan jika memuat huruf yang sama berarti tidak ada perbedaan bermakna ($p > 0,05$).

Pada hasil statistik SGOT kelompok B dapat dijelaskan bahwa pemberian diet tinggi kolesterol menyebabkan peningkatan kadar enzim SGOT sebesar $140,25 \pm 17,37$ U/L dibandingkan dengan kontrol negatif sebesar $64,75 \pm 4,50$ U/L dan memperlihatkan penurunan nilai rata-rata SGOT pada kelompok perlakuan yang diberi terapi bekatul. Kelompok perlakuan C, D, dan E masing-masing dibandingkan dengan kelompok B untuk mengetahui kelompok perlakuan yang efektif dengan kemampuan bekatul dalam menurunkan kadar SGOT pada

serum darah tikus putih. Kelompok C, D, dan E masing-masing memiliki nilai rata-rata kadar SGOT sebesar $97,00 \pm 7,83$ U/L, $89,25 \pm 4,78$ U/L dan $68,50 \pm 4,65$ U/L atau mengalami penurunan sebesar 31%, 36%, dan 51% dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (B). Penurunan kadar SGOT paling efektif terjadi pada kelompok E dengan dosis bekatul 57%/ekor/hari dikarenakan memiliki notasi sama dengan kontrol negatif, dengan hasil kelompok E tidak berbeda nyata dengan kelompok A ($P < 0,05$).

Hasil uji *Post Hoc* kadar SGPT dalam darah tikus putih hasil perlakuan disajikan dalam **Tabel 5.2** berikut ini:

Tabel 5.2 Hasil uji *Post Hoc* kadar SGPT dalam darah tikus putih model diet tinggi kolesterol

Perlakuan	Rata-rata kadar SGPT U/L	Penurunan aktivitas SGPT terhadap kontrol positif (%)
Kontrol negatif (-) (A)	$24,00 \pm 4,55^a$	-
Kontrol positif (+) (B)	$74,50 \pm 6,45^d$	-
P1 (Dosis bekatul 16%/ekor/hari) (C)	$40,00 \pm 5,71^c$	46%
P2 (Dosis bekatul 38%/ekor/hari) (D)	$37,50 \pm 3,51^{bc}$	49%
P3 (Dosis bekatul 57%/ekor/hari) (E)	$28,25 \pm 5,85^{ab}$	62%

Keterangan: rata-rata kadar SGPT jika memuat huruf yang berbeda berarti ada perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) dan jika memuat huruf yang sama berarti tidak ada perbedaan bermakna ($p > 0,05$).

Pada hasil statistik SGPT dapat dijelaskan bahwa pemberian diet tinggi kolesterol menyebabkan peningkatan kadar enzim SGPT sebesar $74,50 \pm 6,45$ U/L dibandingkan dengan kontrol negatif sebesar $24,00 \pm 4,55$ U/L dan memperlihatkan penurunan nilai rata-rata SGPT pada kelompok perlakuan yang diberi terapi bekatul. Kelompok perlakuan C, D, dan E masing-masing dibandingkan dengan kelompok B untuk mengetahui kelompok perlakuan yang efektif dengan kemampuan bekatul dalam menurunkan kadar SGPT pada serum

darah tikus putih. Kelompok C, D dan E masing-masing memiliki nilai rata-rata kadar SGPT sebesar $40,00 \pm 5,71$ U/L, $37,50 \pm 3,51$ U/L dan $28,25 \pm 5,85$ U/L atau mengalami penurunan sebesar 46%, 49% dan 62% dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (B). Penurunan kadar SGPT paling efektif terjadi pada kelompok E dengan dosis bekatul 57%/ekor/hari dikarenakan memiliki notasi sama dengan kontrol negatif, dengan hasil kelompok E tidak berbeda nyata dengan kelompok A.

Enzim SGOT dan SGPT merupakan enzim transaminase yang digunakan untuk mendeteksi kerusakan sel hepar seperti mengetahui terjadinya toksisitas atau perubahan struktur membran sel-sel hepar. Enzim SGOT terdapat di dalam sel jantung, hepar, otot rangka, ginjal, otak, pankreas dan limpa. Enzim SGPT terdapat pada sel hepar, jantung, otot dan ginjal (Rosida, 2016). Enzim SGPT lebih spesifik untuk mendeteksi kerusakan sel hepar karena jumlahnya paling banyak di sel hepar daripada organ tubuh lainnya (Hastuti, 2008). Pengukuran aktivitas SGOT dan SGPT dengan menggunakan metode kinetik yang direkomendasikan oleh *International Federation of Clinical Chemistry* menggunakan alat spektrofotometer (Sari, 2016). Kerusakan sel hepar ditandai dengan perubahan biokimia seperti peningkatan enzim SGOT dan SGPT, oleh karena itu pemeriksaan laboratorium diperlukan untuk membantu diagnosis kerusakan sel hepar. Kerusakan sel hepar akan menyebabkan berbagai enzim akan dilepas ke dalam darah dan ini dapat dijadikan parameter kuantitatif terhadap luas dan kerusakan sel hepar (Tatukude, 2014).

Pada tikus kelompok A (kontrol negatif) rata-rata kadar enzim SGOT pada tikus sebesar $64,75 \pm 4,50$ U/L dan enzim SGPT pada tikus sebesar $24,00 \pm 4,5$ U/L. Menurut Krysanti dan Widyanarko (2016), kadar normal enzim SGOT pada tikus sebesar 45,7-80,8 U/L menunjukkan bahwa tikus kontrol negatif dalam kondisi normal. Menurut Johnson - Delaney (2008) , kadar normal SGPT pada tikus sebesar 17,5-30,2 U/L menunjukkan bahwa tikus kontrol negatif memiliki kadar SGPT yang normal.

Tikus kelompok B (kontrol positif) rata-rata kadar SGOT dan SGPT masing-masing sebesar $140,25 \pm 17,37$ U/L dan $74,50 \pm 6,45$ U/L, menunjukkan terjadi peningkatan kadar enzim SGOT dan SGPT pada serum darah tikus. Hal ini disebabkan oleh pemberian pakan diet tinggi kolesterol berupa minyak babi 10%, asam kolat 0,1% dan kuning telur puyuh rebus 5%. Pemberian pakan diet tinggi kolesterol akan meningkatkan kadar kolesterol total di dalam darah dapat di lihat pada (**lampiran 14**). Makanan tinggi kolesterol akan masuk ke dalam usus. Di dalam usus, lemak diubah menjadi lipoprotein yaitu kilomikron. Kilomikron akan mengalami penguraian oleh enzim lipoprotein lipase, sehingga terbentuk asam lemak bebas dan kilomikron remnant. Kilomikron remnant akan dimetabolisme di dalam hepar sehingga menghasilkan kolesterol bebas. Sebagian kolesterol yang mencapai organ hepar diubah menjadi asam empedu (Islamiyah, 2010). Peningkatan sintesis asam empedu dapat meningkatkan produksi radikal bebas sebagai hasil sampingnya. Apabila produksi radikal bebas berlebih maka antioksidan didalam tubuh tidak mampu mengatasinya sehingga terjadi stres oksidatif (Sugiarto dkk., 2012).

Stres oksidatif akan menyebabkan reaksi peroksidasi lipid membran sel dan organel sel. Peroksidasi lipid membran yang terjadi terus menerus akan mengakibatkan kerusakan sel hepar (Satriawan, 2015). Kerusakan pada sel hepar akan mengakibatkan *Serum Glutamat Oksaloasetat Transaminase* (SGOT) dan *Serum Glutamat Piruvat Transaminase* (SGPT) di dalam sel akan masuk ke dalam peredaran darah karena terjadi peningkatan permeabilitas membran sehingga kadar enzim SGOT dan SGPT dalam darah akan meningkat (Laili, 2013).

Penurunan kadar SGOT dan SGPT pada kelompok C, D dan E terhadap kontrol positif terjadi karena pemberian bekatul yang mengandung serat kasar dan antioksidan sehingga mampu menurunkan kadar SGOT dan SGPT dalam darah tikus. Bekatul yang digunakan berasal dari tanaman padi yang telah dideterminasi dapat dilihat pada (**Lampiran 10**). Jumlah serat kasar yang terkandung dalam bekatul berdasarkan uji proksimat sebesar 21,20% dapat dilihat pada (**Lampiran 11**).

Serat yang terkandung dalam bekatul dapat menghambat pencernaan dan penyerapan lemak termasuk kolesterol. Aksi utama menurunnya penyerapan kolesterol pada pakan berserat tinggi dapat disebabkan oleh peningkatan ekskresi lemak, asam empedu dan kolesterol. Sebagai akibatnya, terjadi penurunan pengiriman kolesterol makanan dalam bentuk kilomikron yang berakibat langsung pengurangan kolesterol di dalam hepar. Serat dalam bekatul diduga dapat meningkatkan aktivitas enzim kolesterol-7 α -hidroksilase yang mampu berkontribusi terhadap pengurangan kolesterol hepar (Hernawati, 2013). Serat

kasar memiliki sifat mengikat bahan organik lainnya seperti asam empedu dan akan terbuang bersama dengan feses. Asam empedu berfungsi mengemulsikan lemak agar dapat diserap oleh tubuh. Serat makanan yang mengikat asam empedu tersebut akan menurunkan jumlah asam empedu bebas sehingga akan dibutuhkan asam empedu baru. Asam empedu baru dibentuk dari kolesterol yang ada di dalam darah sehingga kolesterol dalam darah menjadi turun (Teru dkk., 2017). Penurunan kolesterol menyebabkan produksi asam empedu menurun sehingga jumlah radikal bebas yang dihasilkan dari aktivitas pembentukan asam empedu menjadi turun. Radikal bebas yang menurun menyebabkan reaksi peroksidasi lipid menurun sehingga kerusakan sel hepar menurun dan kadar SGOT dan SGPT dalam darah tikus akan turun.

Uji antioksidan IC_{50} pada bekatul didapatkan hasil yang cukup tinggi yaitu sebesar 51,79 $\mu\text{g/mL}$ (**Lampiran 12**). Menurut Izzati dkk (2012), IC_{50} adalah bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak ($\mu\text{g/mL}$ atau ppm) yang mampu menghambat 50% oksidasi. Semakin kecil nilai IC_{50} semakin tinggi aktivitas antioksidan. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$, kuat (50 - 100 $\mu\text{g/mL}$), sedang (100-150 $\mu\text{g/mL}$), dan lemah (151-200 $\mu\text{g/mL}$).

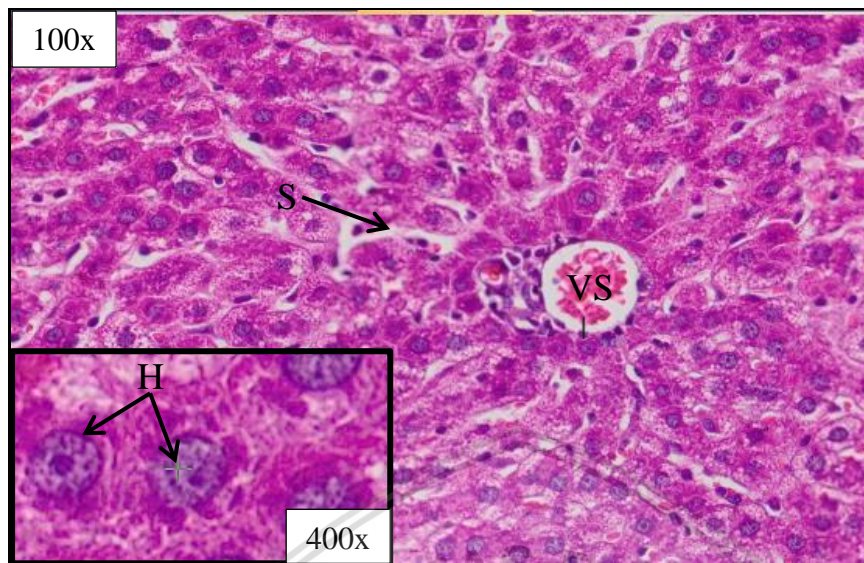
Aktivitas antioksidan bekatul IC_{50} sebesar 51,79 $\mu\text{g/mL}$ tergolong antioksidan yang kuat. Antioksidan dalam bekatul yaitu γ -oryzanol. Selain sebagai antioksidan γ -oryzanol mampu meningkatkan metabolisme komponen pangan seperti kolesterol. Senyawa ini memiliki efek menurunkan dyslipidemia pada tikus dengan ransum tinggi lemak, melalui normalisasi trigliserida, LDL dan total

kolesterol dalam serum serta meningkatkan *High Density Lipoprotein* (HDL). Kemampuan γ -oryzanol dalam menurunkan trigliserida dan level kolesterol juga terkait dengan kemampuannya dalam menekan lipogenesis di hepar dan meningkatkan ekskresi lemak melalui feses (Tuarita dkk., 2017). Apabila kadar kolesterol menurun maka akan terjadi penurunan kadar SGOT dan SGPT di dalam serum darah tikus.

Penurunan kadar SGOT dan SGPT paling efektif terjadi pada tikus kelompok E dengan pemberian dosis bekatul 57%/ekor/hari. Penurunan kadar SGOT dan SGPT terhadap kontrol positif sebesar 51% dan 62%. Tikus kelompok E efektif menurunkan kadar SGOT dan SGPT paling banyak dikarenakan jumlah serat kasar dan antioksidan yang dikandungnya lebih besar dibandingkan dengan kelompok C dan D.

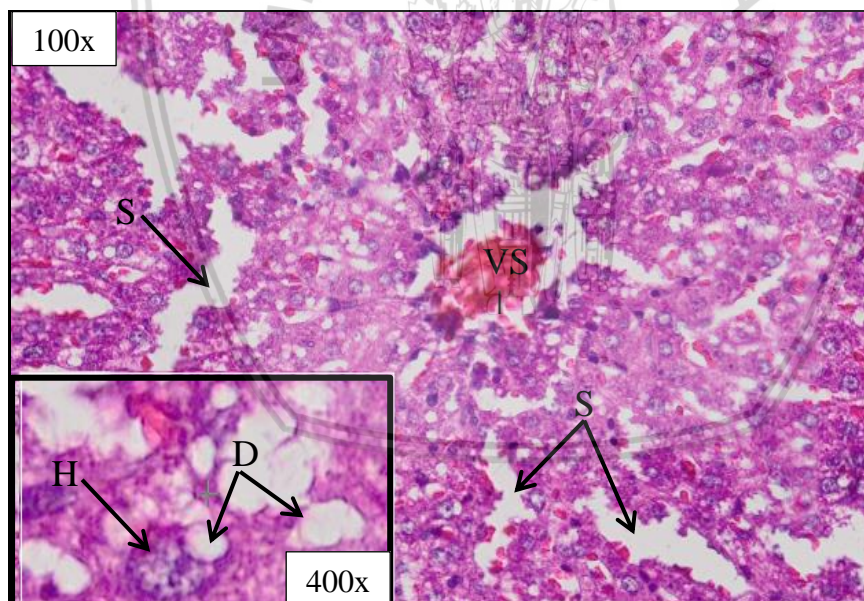
5.2 Pengaruh Pemberian Bekatul terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model Diet Tinggi Kolesterol.

Pemberian diet tinggi kolesterol dan terapi bekatul memberikan pengaruh terhadap akumulasi vakuola lemak di sel hepatosit pada setiap kelompok perlakuan. Perbedaan histopatologi hepar pada setiap kelompok tikus A, B, C, D dan E akan diamati secara mikroskopik yang telah dilakukan pewarnaan terlebih dahulu dengan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin*.



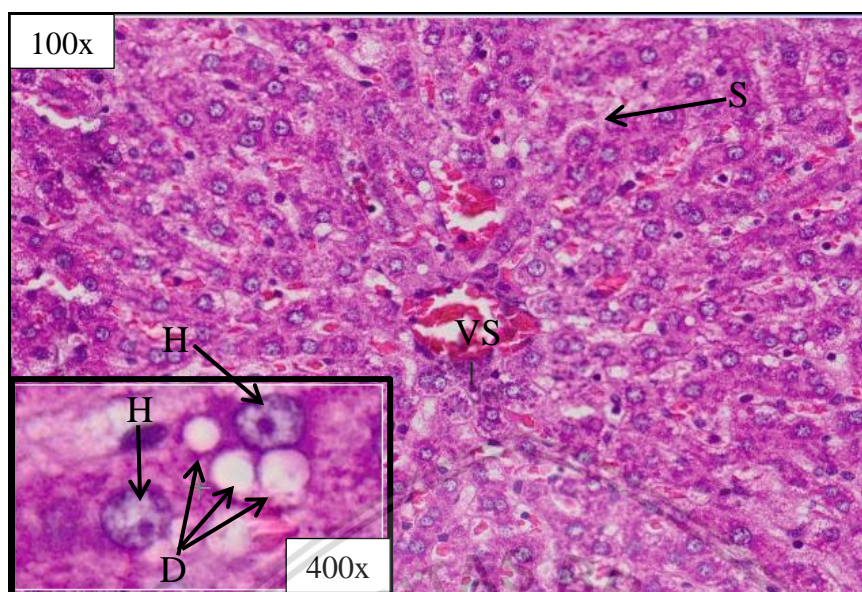
Gambar 5.1 Histologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada kelompok (A) kontrol negatif dengan pewarnaan HE perbesaran 100x dan 400x.

Keterangan: VS= Vena Sentralis; H= Hepatosit; S= Sinusoid



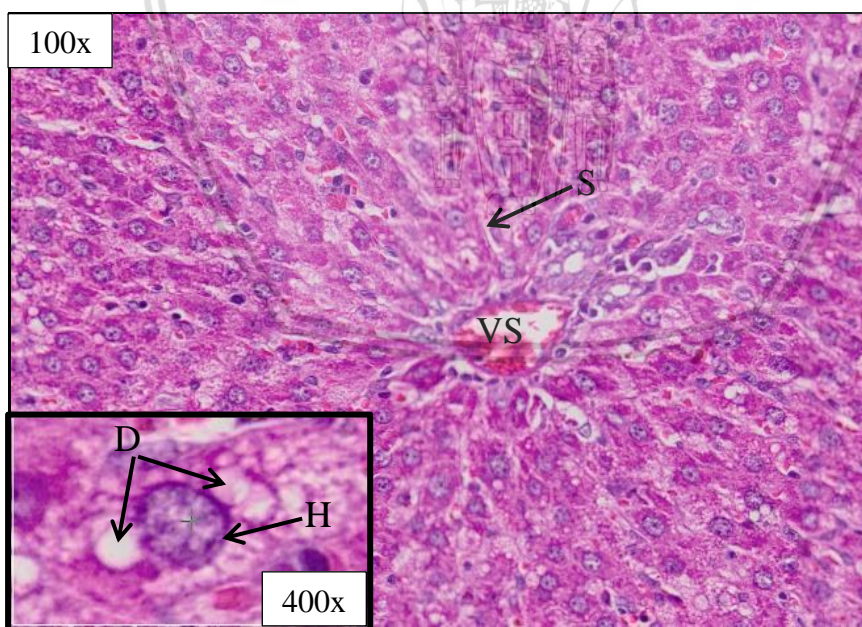
Gambar 5.2 Histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) pada kelompok (B) kontrol positif yang diberi diet tinggi kolesterol dengan pewarnaan HE perbesaran 100x dan 400x.

Keterangan: VS= Vena Sentralis; H= Hepatosit; D= Degenerasi lemak; S= Sinusoid



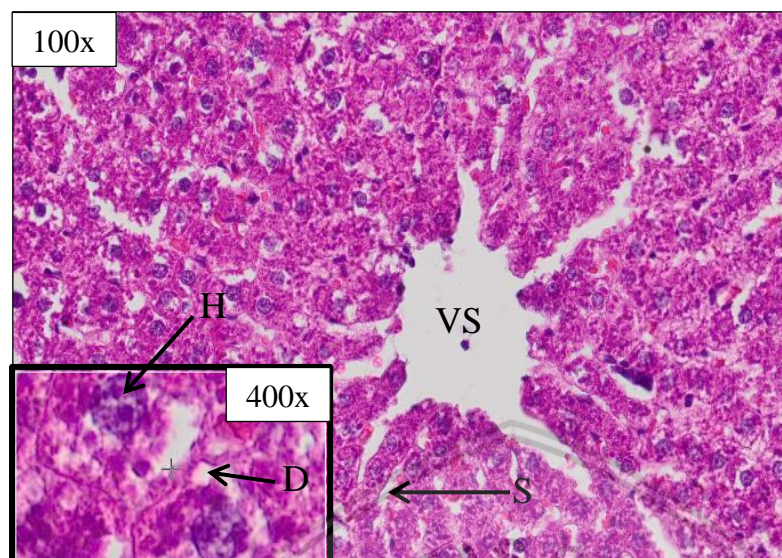
Gambar 5.3 Histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) kelompok (C) terapi bekatul dosis 16%/ekor/hari dengan pewarnaan HE perbesaran 100x dan 400x.

Keterangan: VS= Vena Sentralis; H= Hepatosit; D= Degenerasi lemak; S= Sinusoid



Gambar 5.4 Histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) kelompok (D) terapi bekatul dosis 38%/ekor/hari dengan pewarnaan HE perbesaran 100x dan 400x.

Keterangan: VS= Vena Sentralis; H= Hepatosit; D= Degenerasi lemak; S= Sinusoid



Gambar 5.5 Histopatologi hepar tikus putih (*Rattus norvegicus*) kelompok (E) terapi bekatul dosis 57%/ekor/hari dengan pewarnaan HE perbesaran 100x dan 400x.

Keterangan: VS= Vena Sentralis; H= Hepatosit; D= Degenerasi lemak; S= Sinusoid

Histopatologi organ hepar tikus putih hasil perlakuan (*Rattus norvegicus*) dengan pewarnaan *Hematoxyline Eosin* (HE) menunjukkan adanya perbedaan hasil dari setiap perlakuan. Gambaran histologi hepar pada kelompok A (kontrol negatif) (**Gambar 5.1**), dapat diamati bahwa sel hepatosit terlihat jelas berbentuk polyhedral, dengan inti sel bulat berwarna ungu yang terletak di tengah dan memiliki batas antar sel hepatosit yang jelas. Sinusoid tersusun radier dari vena sentralis. Hal ini sesuai dengan pendapat Utomo dkk (2012), yang menyatakan bahwa sel hepatosit normal menunjukkan susunan sel secara radier terhadap vena sentralis, bentuk sel bulat dan oval, dan terdapat lempeng sel hepatosit. Sel hepatosit terlihat memiliki satu nukleus atau lebih (binukleat) yang terdapat di tengah sel.

Gambaran histopatologi hepar pada kelompok B (kontrol positif) (**Gambar 5.2**) yang diberi pakan diet tinggi kolesterol menunjukkan adanya akumulasi vakuola lemak di sel hepatosit yang mendesak inti sel hepatosit. Struktur sinusoid yang tidak teratur dan tampak adanya ruang kosong yang lebar. Gambaran histopatologi hepar kelompok C (perlakuan 1) (**Gambar 5.3**) yang diberi terapi bekatul dosis 16%/ekor/hari menunjukkan adanya pengurangan akumulasi vakuola lemak di sel hepatosit dibandingkan dengan kelompok B (kontrol positif). Sinusoid masih terlihat tidak teratur. Gambaran histopatologi hepar kelompok D (perlakuan 2) (**Gambar 5.4**) yang diberi terapi bekatul dosis 38%/ekor/hari menunjukkan pengurangan akumulasi vakuola lemak di sel hepatosit yang lebih banyak dan sinusoid sudah terlihat teratur dibandingkan dengan kelompok C. Gambaran histopatologi hepar kelompok E (perlakuan 3) (**Gambar 5.5**) yang diberi terapi bekatul dosis 57%/ekor/hari menunjukkan adanya akumulasi vakuola lemak yang sangat sedikit, sinusoid sudah terlihat teratur, inti sel hepatosit berwarna ungu dan batas antara sel hepatosit terlihat jelas dibandingkan dengan kelompok C dan D.

Degenerasi lemak dapat terjadi akibat adanya gangguan metabolisme lemak, seperti gangguan terhadap fungsi mitokondria, hipoksia yang dapat menghambat oksidasi lemak (Wicaksono dkk., 2015). Degenerasi lemak di sel hepatosit yang biasanya ditandai dengan adanya vakuola-vakuola kecil di dalam sitoplasma. Vakuola dapat membesar dan mendesak inti sel ke bagian tepi sel hepatosit (Utomo dkk, 2012). Akumulasi vakuola lemak di sel hepatosit dan pelebaran pada sinusoid dapat terjadi karena pemberian diet tinggi kolesterol. Diet

tinggi kolesterol yang digunakan terdiri dari minyak babi 10%, asam kolat 0,1% dan kuning telur puyuh 5%. Minyak babi dan kuning telur puyuh mengandung lemak jenuh yang tinggi. Kandungan asam lemak jenuh yang tinggi dapat meningkatkan kadar kolesterol dalam darah (Pratiwi dkk., 2015).

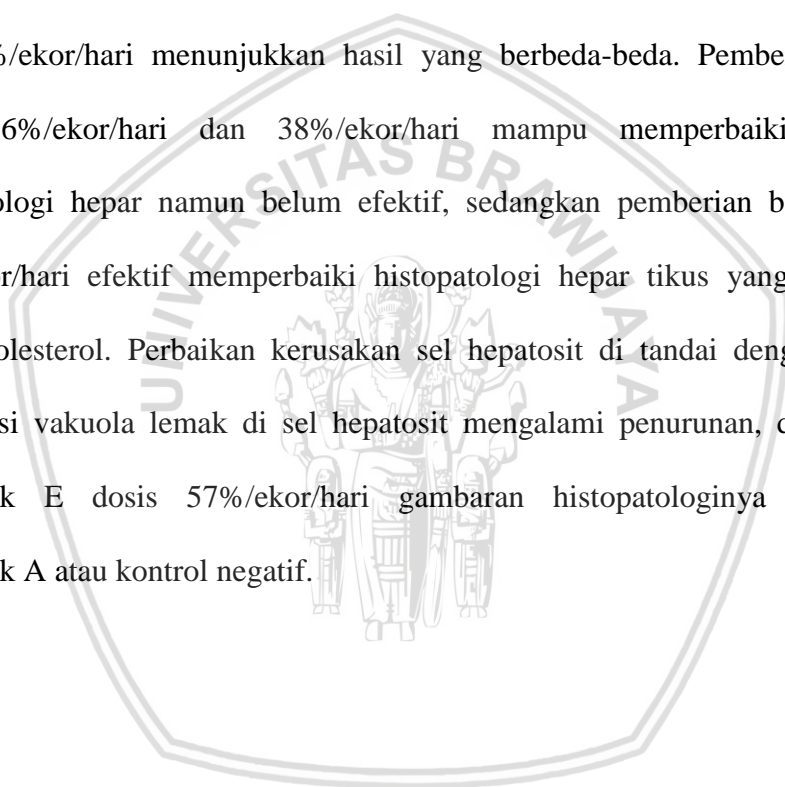
Peningkatan kadar kolesterol dalam darah akan menyebabkan sintesa asam empedu meningkat. Sintesa asam empedu melibatkan enzim 7a- hidroksilase dengan memerlukan oksigen, NADPH dan sitokrom P-450. Semakin banyak asam empedu yang disintesis maka akan semakin tinggi aktivitas oksigen dan sitokrom P-450 yang diperlukan. Asam empedu yang meningkat akan meningkatkan produksi radikal bebas. Radikal bebas dihasilkan dari reduksi oksigen pada reaksi 7a-hidroksilasi dalam proses pembentukan asam empedu (Arauna dkk., 2013). Radikal bebas yang berlebih akan mengakibatkan antioksidan di dalam tubuh tidak dapat mengatasinya sehingga menyebabkan terjadinya stres oksidatif (Ismawati, 2012). Stres oksidatif akan menyebabkan peroksidasi lipid yang mengakibatkan penurunan aktivitas enzim lipoprotein lipase. Penurunan aktivitas LPL akan menyebabkan perubahan VLDL menjadi IDL terhambat, sehingga VLDL akan mengendap di hepar dan menyebabkan perlemakan hepar berupa akumulasi vakuola lemak pada sel hepatosit dan sinusoid (Arauna dkk., 2012). Kerusakan pada sinusoid dapat terjadi akibat terjadinya degenerasi lemak yang parah sehingga dapat terbentuk vakuola lemak secara merata. Vakuola lemak ini menimbulkan banyak ruang kosong sehingga jarak antar sinusoid menjadi lebar (Letsoin, 2016).

Kelompok C, D dan E yang diberi terapi bekatul dengan dosis masing-masing 16%/ekor/hari, 38%/ekor/hari dan 57%/ekor/hari mengalami perbaikan pada sel hepatosit dan sinusoid. Perbaikan ditunjukkan dengan adanya pengurangan akumulasi vakuola lemak di sel hepatosit dan perbaikan pada struktur sinusoid.

Bekatul mengandung serat kasar dan antioksidan γ -oryzanol yang memiliki kemampuan dalam memperbaiki kerusakan sel hepatosit. Mekanisme perbaikannya dengan cara meningkatkan pengikatan asam empedu di usus. Serat yang mengikat asam empedu tersebut akan menurunkan jumlah asam empedu bebas sehingga akan dibutuhkan asam empedu baru. Pembentukan asam empedu baru dengan cara menarik kolesterol yang ada di dalam darah sehingga kadar kolesterol dalam darah akan menurun (Teru dkk., 2017). Kandungan antioksidan dalam bekatul yaitu γ -oryzanol memiliki kemampuan menurunkan level kolesterol dengan cara menekan lipogenesis di hepar dan meningkatkan ekskresi lemak melalui feses (Tuarita dkk., 2017). γ -oryzanol dapat menurunkan kadar kolesterol, memiliki aktivitas anti inflamasi dan dapat menghambat oksidasi kolesterol (Iriyani, 2011). Antioksidan γ -oryzanol dapat menghambat peroksidasi lipid dengan sangat baik (Sudirman, 2013). Kadar kolesterol yang menurun akan menyebabkan sintesa asam empedu menurun. Penurunan sintesis asam empedu akan menurunkan jumlah radikal bebas. Akibat menurunnya radikal bebas akan menurunkan terjadinya stres oksidatif. Penurunan stres oksidatif akan menghambat peroksidasi lipid, penurunan peroksidasi lipid didukung oleh aktivitas antioksidan γ -oryzanol. Apabila peroksidasi lipid terhambat maka

aktivitas enzim LPL dapat meningkat. Peningkatan aktivitas enzim LPL menyebabkan VLDL dapat diubah menjadi IDL sehingga tidak terjadi akumulasi VLDL di sel hepatosit yang ditandai dengan penurunan akumulasi vakuola lemak di sel hepatosit (Lamanepa, 2005).

Hasil pengamatan histopatologi hepar tikus model diet tinggi kolesterol yang di terapi dengan menggunakan dosis bekatul 16%/ekor/hari, 38%/ekor/hari dan 57%/ekor/hari menunjukkan hasil yang berbeda-beda. Pemberian bekatul dosis 16%/ekor/hari dan 38%/ekor/hari mampu memperbaiki gambaran histopatologi hepar namun belum efektif, sedangkan pemberian bekatul dosis 57%/ekor/hari efektif memperbaiki histopatologi hepar tikus yang diberi diet tinggi kolesterol. Perbaikan kerusakan sel hepatosit di tandai dengan jumlah akumulasi vakuola lemak di sel hepatosit mengalami penurunan, dimana pada kelompok E dosis 57%/ekor/hari gambaran histopatologinya menyerupai kelompok A atau kontrol negatif.



BAB 6. PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Bekatul dapat menurunkan kadar SGOT dan SGPT pada hewan model tikus diet tinggi kolesterol. Pemberian bekatul dosis 57%/ekor/hari merupakan dosis efektif.
2. Pemberian bekatul dapat memperbaiki gambaran histopatologi hepar model tikus diet tinggi kolesterol seperti mengurangi perlemakan di hepatosit, perbaikan sinusoid dan bentuk sel hepatosit. Pemberian bekatul dosis 57%/ekor/hari merupakan dosis efektif.

6.2 Saran

Untuk mengetahui pengaruh bekatul sebagai terapi hiperkolesterolemia perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap parameter selain SGOT dan SGPT yang berkaitan dengan hiperkolesterolemia.

DAFTAR PUSTAKA

- Adleend. 2015. Gambaran Histopatologi Ginjal Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) setelah Pemberian Meloxicam Dosis Toksis [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.
- Arauna, Y., Aulanni'am., dan D.A. Oktavianie. 2012. Studi Kadar Trigliserida dan Gambaran Histopatologi Hepar Hewan Model Tikus (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia yang Diterapi dengan Ekstrak Air Benalu Mangga (*Dendrophthoe petandra*). *Jurnal Program Studi Pendidikan Dokter Hewan*. Universitas Brawijaya.
- Astawan, M dan A. Leomitro. 2009. *Khasiat Whole Grain : Makanan Berserat Untuk Hidup Sehat Hal 10-11*. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Chahyanto, B. A., Rimbawan, S. A. Marliyati dan W. Winarsih. 2016. Efek Diet Tinggi Kolesterol terhadap Peningkatan Kolesterol Darah, Gambaran Histopatologi Hati, dan Bobot Badan Kelinci New Zealand White Jantan. *Jurnal Sains Veteriner* 34(1) : 0126-0421.
- Hasan, M. 2016. Pengaruh Pemberian Minuman Sari Tomat, Serbuk Bekatul dan Emulsi Minyak Bekatul terhadap Aktivitas Antioksidan pada Orang Dewasa Gemuk [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor: Bogor.
- Hastuti, T. 2008. Aktivitas Enzim Transaminase dan Gambaran Histopatologi Hati Tikus yang Diberi Kelapa Kopyor Pasca Induksi Parasetamol. [Skripsi]. FMIPA Institute Pertanian Bogor. Bogor.
- Heriansyah, T. 2013. Pengaruh Berbagai Durasi Pemberian Diet Tinggi Lemak terhadap Profil Lipid Tikus Putih (*Rattus norvegicus* Strain Wistar) Jantan. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala* Vol 13 No.3.
- Hernawati, W. Manalu, A. Suprayogi, dan D. A. Astuti. 2013. Perbaikan Parameter Lipid Darah Mencit Hiperkolesterolemia dengan Suplemen Pangan Bekatul. *Jurnal Kedokteran Hewan* Vol.45 No.1
- Herwiyarirasanta. 2010 . *Effect of Black Soybean Extract Supplementation in Low Density Lipoprotein Level of Rats (Rattus norvegicus) with High Fat Diet*. Science Article Universitas Airlangga. Surabaya.
- Iriyani, N. 2011. *Sereal dengan Substitusi Bekatul Tinggi Antioksidan*. Artikel Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang.
- Islamiyah, D. 2010. Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Jambu Biji (*Psidium Guajava L.*) terhadap Kadar Kolesterol Total, HDL, LDL, dan Trigliserida Serum Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Alokstan

[Skripsi]. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

- Izzati, N.N., Diniatik., dan W.S. Rahayu. 2012. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Perasan Daun Manggis (*Garcinia mangostana L.*) Berdasarkan Metode DPPH. *Jurnal Pharmacy* Vol. 09 No.03.
- Johnson-Delaney, C.A. 2008. *Exotic Companion Medicine Handbook for Veterinarians*. Zoological Education Network. Florida USA.
- Kusriningrum. 2010. *Perancangan Percobaan*. Universitas Airlangga Press: Surabaya.
- Krysanti, A. dan S.B. Widjanarko. 2014. Toksisitas Subakut Tepung Glukomanan (*A. Muelleri blume*) terhadap SGOT dan Natrium Tikus Wistar Secara IN VIVO. *Jurnal Pangan dan Agroindustry* Vol.2 No.1 P.1-7.
- Laili, U. 2013. Pengaruh Pemberian Temulawak (*Curcuma Xanthorrhiza Roxb*) Dalam Bentuk Kapsul terhadap Kadar SGPT (*Serum Glutamate Piruvat Transaminase*) dan SGOT (*Serum Glutamate Oksaloasetat Transaminase*) pada Orang Sehat [Skripsi]. FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta.
- Lamanepa, M.E.L. 2005. Perbandingan Profil Lipid dan Perkembangan Lesi Aterosklerosis pada Tikus Wistar Diberi Diet Perasan Pare dengan Diet Perasan Pare dan Statin [Tesis]. Magister Ilmu Biomedik. Program Pascasarjana Universitas Diponegoro, Semarang.
- Larasathi, A. S., C. Mahdi, dan M. C. Padaga. 2012. Pengaruh Terapi Yogurt Susu Kambing terhadap Kadar *Malonaldehida (MDA)* dan Ekspresi *Tumor Nekrosis Factor Alpha (TNF-A)* Organ Hati Hewan Model Tikus (*Rattus norvegicus*) Hiperkolesterolemia [Skripsi]. Universitas Brawijaya. Malang.
- Letsoin, B. 2016. Pengaruh Pemberian Ekstrak Bunga Rosella (*Hibiscus sadbariffa linn.*) terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Mencit (*Mus musculus*) Jantan yang Dipapar Pb Asetat [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Murwani, S., M. Ali, K. Muliarta. 2006. Diet Aterogenik pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Sebagai Model Hewan Aterosklerosis. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. Vol.XXII,No.1
- Pareira, F.M.M. 2010. Pengaruh Pemberian Jus Buah Naga Putih (*Hylocereus undatus H.*) terhadap Kadar Kolesterol Total Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret. Surakarta.

- Peanasari, A.R.I., S. L. Djamil, dan A. Rohmani. 2015. Pengaruh Formalin Peroral terhadap Kadar SGOT dan SGPT Tikus Wistar. *Jurnal Kedokteran Muhammadiyah* Vol.2 No.1.
- Riesanti, D.G., M. C. Padaga, dan Herawati. 2012. *Kadar HDL, Kadar LDL dan Gambaran Histopatologi Aorta pada Hewan Model Tikus (Rattus norvegicus) Hiperkolesterolemia dengan Terapi Ekstrak Air Benalu Mangga (Dendrophthoe pentandra)*. Program Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya. Malang.
- Rimba, Z.V.P. 2011. Gambaran Kolesterol Total pada Penderita Diabetes Mellitus Tipe 2 Di RSUPN Cipto Mangunkusumo Tahun 2010 [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Program Studi Kedokteran Umum. Jakarta.
- Rufaida, F., Aulanni'am, dan S. Murwani. 2012. *Profil Kadar Kolesterol Total, Low Density Lipoprotein (LDL), dan Gambaran Histopatologi Aorta pada Tikus (Rattus norvegicus) Hiperkolesterolemia dengan Terapi Ekstrak Air Benalu Mangga (Dendrophthoe pentandra)*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Rosida, A. 2016. Pemeriksaan Laboratorium Penyakit Hati. *Berkala Kedokteran* Vol.12, No.1 :123-131.
- Saputri, L.O., B. K. Satriyasa dan W. P. S. Yasa. 2017. Ekstrak Air Biji Papaya (*Carica papaya*) Dapat Menurunkan Kadar Kolesterol Total dan Kadar Serum Glutamate Piruvat Transaminase (SGPT) pada Tikus Jantan Gallur Wistar yang Hiperkolesterolemia. *Warmadewa Medical Journal*, Vol.2 No.1 Hal.1-10.
- Sari, P.A.M. 2016. Ketoksikan Akut Kombinasi Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dan Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia lamk.*) Dengan Parameter Kadar SGOT dan SGPT Tikus Putih Jantan (*Rattus norvegicus*) [Skripsi]. Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Setiawan, A. 2010. Kandungan Serat Kasar dan Protein Kasar Bekatul yang Difermentasi *Acidothermus cellulolyticus* dan *Aspergillus terreus* Dari Cairan Rumen Sapi [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Sinuraya, A. K. 2011. Pengaruh Ekstrak Daun Katuk (*Sauropus androgynous*) Sebagai Hepatoprotektor terhadap Kerusakan Histologis Hepar Tikus Putih yang Dipapar Parasetamol [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Sofian, F.F. 2011. *Efek Ekstrak Etanol Buah Terung Ungu (Solanum melongena L) terhadap Kadar Kolesterol Total dan Trigliserida pada Tikus Putih Jantan Hyperlipidemia*. Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran.

- Sugiarto, M., M. C. Padaga, dan D. K. Wuragil. 2012. *Efek Terapi Yogurt Susu Kambing terhadap Ekspresi Inducible Nitric Oxyde Synthase (iNOS) dan Kadar Malondialdehida (MDA) pada Aorta Hewan Model Tikus (Rattus norvegicus) Hiperkolesterolemia*. Program Kedokteran Hewan. Universitas Brawijaya.
- Suputri, N.K.A.W. 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak Bawang Merah (*Allium ascalonicum* L) terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Aloksan [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Hewan. Universitas Airlangga.
- Susanti, E. 2015. Gambaran Histopatologi Hati Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diberi Insektisida Golongan Piretroid (*Sipermetrin*) [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Swastika, N.D. 2009. Stabilisasi Tepung Bekatul Melalui Metode Pengukusan dan Pengeringan Rak Serta Pendugaan Umur Simpannya [Skripsi]. Fakultas Teknologi Pertanian Institute Pertanian Bogor. Bogor.
- Tatukude,P., L.Loho., P.Lintong. 2014. Gambaran Histopatologi Hati Mencit Swiss yang Diberi Air Rebusan Sarang Semut (*Mymercodia pendans*) Paska Induksi dengan Carbon Tetrachloride (Ccl₄). *Jurnal e-Biomedik* Vol.2,Nomer 2.
- Tuarita, M.Z., N.F. Sadek., dan Sukarno. 2017. Pengembangan Bekatul Sebagai Pangan Fungsional: Peluang, Hambatan dan Tantangan. Artikel Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan. IPB: Bogor.
- Teru, V., M. H. Natsir, dan E. Widodo. 2017. Pemanfaatan Tepung Kulit Bawang Merah (*Allium ascalonicum*) sebagai Imbuhan Pakan terhadap Penampilan, Profil Darah, dan Kolesterol pada Puyuh Petelur. *Jurnal Ilmu-Ilmu Peternakan*, 27 (3): 76-82.
- Ulya, Z., M.R.Indra., dan Supranowo. 2014. Ekstrak Rosella Menurunkan Perlemakan dan Ekspresi ADMA Hepar Akibat Diet Aterogenik pada Tikus. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, Vol.28, No.1.
- Utomo, Y., A.Hidayat., M.Dafip., dan Sasi. 2012. Studi Histopatologi Hati Mencit (*Mus musculus*) yang Diinduksi Pemanis Buatan. *Jurnal MIPA* 35 (2).
- Uthia, R., S. Dharma, dan F. M. Dewita. 2016. Pengaruh Pemberian Campuran Jahe Merah, Bawang Putih, Cuka Anggur dan Madu Terhadap Kadar Kolesterol Total dan Histopatologis Pembuluh Darah Aorta Jantung Tikus Putih Jantan. *Jurnal Farmasi Higea* Vol.8,No.2.

Wicaksono, H.S., I. Narayani., dan I. Setyawati. 2015. Struktur Hati Mencit (*Mus musculus L.*) Setelah Pemberian Ekstrak Daun Kaliandra Merah (*Calliandra calothyrsus meissn.*). *Jurnal Simbiosis III* (1): 258-268.

Xenoulis, P.G and J.M. Steiner. 2010. Lipid Metabolism and Hyperlipidemia in Dogs. *The Veterinary Journal* 183:12-21 Collage of Veterinary Medicine And Biomedical Science.

